

ALBA Elution Kit

Für die Säure-Elution von Antikörpern aus intakten Erythrozyten



VERWENDUNGSZWECK

Das ALBA Elution Kit dient zur Säure-Elution von Antikörpern aus intakten Erythrozyten, um einen weiteren Nachweis und/oder eine weitere Identifizierung zu ermöglichen.

Es ist für den professionellen Einsatz bei Blutspendern oder in klinischen Laborumgebungen zur Säure-Elution von Antikörpern im Zusammenhang mit Transfusionen in der Allgemeinbevölkerung bestimmt.

Dieses präanalytische Verfahren wird manuell durchgeführt.

Das ALBA Elution Kit ist ein Zubehörtel, das nur zur Probenvorbereitung dient und keine Diagnoseergebnisse für einen Analyten ergibt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Antikörper, die *In vivo* oder *In vitro* an Erythrozyten gebunden sind, können durch Säure-Elution dissoziiert und wiedergewonnen werden. Die eluierten Antikörper können dann mit serologischen Methoden weiter identifiziert/nachgewiesen werden.

VERFAHRENSPRINZIP

Die ungebundenen Antikörper werden durch gründliches Waschen mit der Arbeitswaschlösung aus der Probe entfernt. Nach dem Waschen wird der Antigen-Antikörper-Komplex durch Zugabe einer Elutionslösung mit niedrigem pH-Wert dissoziiert. Das wiedergewonnene Eluat wird dann durch Zugabe der Buffering Solution (Pufferlösung) auf einen für serologische Tests geeigneten pH-Wert gebracht.

REAGENZ

Das ALBA Elution Kit besteht aus:

Fläschchenkennung	Name	Beschreibung
1	Concentrated Wash Solution (Konzentrierte Waschlösung)	Eine Glycin-gepufferte Lösung, die zur Minimierung der Antikörperdissoziation während des Waschvorgangs verwendet wird. 1 x 30-mL-Fläschchen. Konservierungsmittel: 1,0 % Natriumazid.
2	Elution Solution (Elutionslösung)	Ein Glycinpuffer mit niedrigem pH-Wert und einem pH-Indikator. 1 x 10-mL-Fläschchen.
3	Buffering Solution (Pufferlösung)	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Lösung mit Rinder Serumalbumin. 1 x 11-mL-Fläschchen. Konservierungsmittel: <0,1 % Natriumazid.

Die Kit-Komponenten sind zwischen den Chargen austauschbar, sofern sie nicht abgelaufen sind.

Das Rinder Serumalbumin wurde aus Tieren gewonnen, die als frei von boviner spongiformer Enzephalopathie (BSE) deklariert wurden und bei denen ein geringes Risiko für transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSE) besteht.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Nur für die *In-vitro*-Diagnostik.

Die Verwendung der empfohlenen Geräte/Materialien und die strikte Einhaltung der Verfahren sind von entscheidender Bedeutung.

Das Produkt nicht verwenden, wenn die Produktintegrität beeinträchtigt ist.

Geeignete persönliche Schutzausrüstung tragen und die örtlichen Laborsicherheitsverfahren einhalten.

Produkt nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden (Jahr, Monat, Tag: JJJJ-MM-TT).

Bei Trübung nicht mehr verwenden.

Dieses Produkt enthält Komponenten (Pipettierhilfen am Tropffläschchen), die trockenen Naturkautschuk enthalten. Diese Komponente ist als latexfrei zertifiziert.

Die vollständigen Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Gefahrenhinweise und Sicherheitshinweise für die EU

1	Concentrated Wash Solution (Konzentrierte Waschlösung) (Enthält: Natriumazid 1 %)	Signalwort – Warnung
		H312 Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt. H371 Kann die Organe schädigen. H412 Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P260 Nebel / Dampf / Aerosol nicht einatmen. P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280 Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz tragen. P308+P311 Bei Exposition oder Verdacht: GIFTINFORMATIONSZENTRUM / Arzt anrufen. P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. P501 Gemäß den nationalen Vorschriften entsorgen.

EUH-Sätze

1	Concentrated Wash Solution (Konzentrierte Waschlösung) (Enthält: Natriumazid 1 %)	EUH032 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
3	Buffering Solution (Pufferlösung) (Enthält: Natriumazid <0,1 %)	EUH032 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

LAGERUNG, HANDHABUNG UND ENTSORGUNG

Das ALBA Elution Kit muss bei Nichtverwendung bei 2 bis 25 °C aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung bei Temperaturen außerhalb dieses Bereichs kann zu einem beschleunigten Verlust der Reagenzienaktivität führen. Nicht einfrieren. Im Abschnitt „Vorbereitung der Reagenzien“ finden Sie Empfehlungen zur Lagerung der vorbereiteten Arbeitswaschlösung.

Natriumazid kann bei Verschlucken giftig sein und mit Blei- und Kupferrohren reagieren und explosive Verbindungen bilden. Beim Entsorgen in ein Waschbecken mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidablagerungen zu vermeiden.

Befolgen Sie die lokalen Entsorgungsvorschriften Ihres Standorts sowie die Empfehlungen und den Inhalt des Sicherheitsdatenblatts und/oder lesen Sie die chemischen Informationen im Abschnitt „Reagenz“, um die sichere Entsorgung dieses Produkts zu ermitteln.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

Die Proben sollten mithilfe eines standardmäßigen Entnahmeverfahrens entnommen werden. Die Probe sollte so bald wie möglich nach der Entnahme getestet werden. Wenn sich der Test verzögert, sollte die Probe gekühlt gelagert werden. Die Verwendung von Erythrozyten, die älter als 72 Stunden sind, kann zu geringeren Antikörper-Erträgen führen. In EDTA entnommene antikoagulierte Proben sind zu bevorzugen.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Bereiten Sie die Arbeitswaschlösung vor, indem Sie die konzentrierte Waschlösung **1** 1:10 mit destilliertem oder entionisiertem Wasser verdünnen (ein Teil konzentrierte Waschlösung plus neun Teile Wasser). Die Lösung ist bei 2 bis 8 °C bis zu drei Monate und bei 20 bis 25 °C bis zu 10 Tage stabil. Die Verwendung von kalter Arbeitswaschlösung kann die Antikörperdissoziation während des Waschens verringern.

Wenn Sie die gesamte Menge von 30 mL der bereitgestellten konzentrierten Waschlösung vorbereiten, mischen Sie diese mit 270 mL Wasser.

Die anderen Komponenten des Kits werden gebrauchsfertig geliefert.

VERFAHREN

Dieses Reagenz wurde nur für die Verwendung gemäß dem nachfolgend beschriebenen Verfahren standardisiert.

Geliefertes Material

- ALBA Elution Kit

Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Isotonische Kochsalzlösung
- Pipetten
- Zentrifuge
- 12 x 75-mm-Teströhrchen

Elutionsverfahren

Bei der Verwendung zusätzlicher Testgeräte (z. B. Zentrifuge) sind die Verfahren zu befolgen, die im Benutzerhandbuch des Geräteherstellers enthalten sind.

1. Das Aliquot der Erythrozyten einmal in isotonischer Kochsalzlösung waschen. Das Aliquot muss ausreichend sein, um 1 mL konzentrierte Zellen zu erhalten. Nach dem Waschen so viel Kochsalzlösung wie möglich entfernen.
2. Die Erythrozyten viermal mit Arbeitswaschlösung waschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Nach jedem Waschvorgang so viel Überstand wie möglich entfernen. Ein kleines Aliquot des Überstands aus dem letzten Waschvorgang wird als Kontrolle reserviert, die parallel zum Eluat geprüft wird.

HINWEIS: Die Verwendung der Arbeitswaschlösung wird empfohlen, um die Antikörperdissoziation während des Waschens zu minimieren; stattdessen kann ggf. isotonische Kochsalzlösung verwendet werden.

3. 1 mL (ca. 20 Tropfen) der gewaschenen Erythrozyten in ein sauberes Röhrchen umfüllen.
4. 1 mL (ca. 20 Tropfen) Elutionslösung **2** in das Gefäß geben und vorsichtig durch viermaliges Umdrehen des Gefäßes mischen.
HINWEIS: Wenn zur Vorbereitung des Eluats ein anderes Volumen Erythrozytenkonzentrat verwendet wird, muss das Volumen der verwendeten Elutionslösung dem Volumen des gewaschenen Erythrozytenkonzentrats entsprechen.
5. Sofort 60 Sekunden lang bei 1000 RZB (ca. 3400 U/min) zentrifugieren.*
6. Eluat in ein sauberes Röhrchen überführen und die Erythrozyten entsorgen.
HINWEIS: Falls übermäßig viele Zelltrümmer vorhanden sind, kann das Eluat erneut zentrifugiert und in ein zweites sauberes Röhrchen überführt werden, bevor die Buffering Solution (Pufferlösung) zugegeben wird.
7. Dem Eluat tropfenweise **3** Buffering Solution (Pufferlösung) hinzufügen, und nach jedem Tropfen gut mischen, bis eine blaue Färbung erscheint und auch nach dem Mischen erhalten bleibt. Die blaue Färbung zeigt an, dass der pH-Wert des Eluats wieder innerhalb des für den Test geeigneten Bereichs liegt.
8. Das Eluat 2 Minuten bei 1000 RZB (ca. 3400 U/min)* zentrifugieren, um eventuelle Zellrückstände zu entfernen.
9. Das zentrifugierte Eluat in ein sauberes Röhrchen überführen.
10. Wenn das Eluat mit Säulenagglutinationstechniken getestet werden soll, muss es erneut bei der für die Testmethode geeigneten Geschwindigkeit zentrifugiert und in ein sauberes Röhrchen überführt werden.
11. Das Eluat ist nun zum Testen bereit.

Das Eluat kann, je nach den Standardarbeitsverfahren des Labors oder der Gebrauchsanweisung des Herstellers, mit einem herkömmlichen indirekten Antiglobulin-Test mit oder ohne Anreicherungsmedium oder Säulenagglutinationstechniken getestet werden.

Das Eluat kann bei 2 bis 8 °C gelagert und bis zu sieben Tage nach der Erstellung getestet werden.

* Oder eine für die verwendete Zentrifuge geeignete Dauer und Geschwindigkeit.

QUALITÄTSKONTROLLE

Wenn im Eluat Antikörper nachgewiesen werden, muss ein Aliquot des Überstands aus dem letzten Waschvorgang als Kontrolle getestet werden. Ein negatives Kontrollergebnis zeigt an, dass die im Eluat erkannten Antikörper aus einem gebundenen Zustand freigesetzt wurden und nicht von ungebundenen Antikörpern stammen, die nach unzureichendem Waschen verblieben sind.

Wenn das Ergebnis des Kontrolltests positiv ist, muss die Elution wiederholt werden, wobei darauf zu achten ist, dass die Erythrozyten gründlich gewaschen werden.

BESCHRÄNKUNGEN

Die beim Elutionsprozess erzielte Antikörperausbeute hängt von folgenden Variablen ab:

1. Menge an Antikörpern, die an die Erythrozyten gebunden sind.
2. Dissoziationsgrad gebundener Antikörper während des Waschvorgangs.
3. Grad der Antikörperrekombination, die auftritt, bevor das Eluat von den Erythrozyten getrennt wird.
4. Denaturierungsgrad des Immunglobulins durch die Elutionslösung mit niedrigem pH-Wert während der Dissoziation.

Der Grad der Hämolyse im Eluat wird durch eine längere Exposition der Erythrozyten gegenüber der Elutionslösung sowie durch probenspezifische Eigenschaften wie Alter und osmotische Fragilität der Erythrozyten, die zur Eluatvorbereitung verwendet werden, beeinflusst.

Wenn der pH-Wert des Eluats nicht auf den richtigen Wert eingestellt wird, kann es bei den nachfolgenden Tests zur Hämolyse der Erythrozyten des Tests oder zur Hemmung der Antikörperaktivität kommen.

Wenn beim Einstellen des pH-Werts zu viel Buffering Solution (Pufferlösung) hinzugefügt wird, kann es zur Verdünnung der im Eluat vorhandenen Antikörper kommen.

Weitere Faktoren, die zu falschen Ergebnissen führen können, sind die Verwendung ungleicher Mengen Erythrozytenkonzentrat und Elutionslösung, unsachgemäße Technik, falsche Zentrifugationsparameter, Verwendung von über 72 Stunden alten Blutproben oder kontaminierte Geräte, Materialien oder Proben.

Die Erythrozyten, die bei der Elution verwendet werden, dürfen nicht für die Antigenbestimmung verwendet werden.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Das ALBA Elution Kit wird nach zufriedenstellenden Qualitätskontrolltests des Herstellers freigegeben.

Vergleichsstudie

Die Elutionsverfahren wurden an Proben mit *In-vivo*- und *In-vitro*-IgG-sensibilisierten Erythrozyten (RBC) mit dem ALBA Elution Kit und einem etablierten Vergleichskit durchgeführt. Die erhaltenen Eluate wurden mit manueller Röhren-Serologie mit und ohne PEG-Potenzenzierung sowie Säulenagglutinationstechniken, darunter ORTHO BioVue® und Bio-Rad ID-System, getestet und die Ergebnisse wurden auf Äquivalenz verglichen.

Probenotyp	Testanzahl	Konkordanz (%) von ALBA Elution Kit mit Komparator-Kit
<i>In-vitro</i> -IgG-sensibilisierte Erythrozyten	45	100
<i>In-vivo</i> -IgG-sensibilisierte Erythrozyten	16	100

Es wurde eine 100%ige Äquivalenz der Ergebnisse zwischen den Eluaten des ALBA Elution Kit und denen des Vergleichskits nachgewiesen.

Präzisionsstudie

Wiederholbarkeit: Mit dem ALBA Elution Kit wurden 10 Elutionsverfahren an einer Erythrozytenprobe durchgeführt, die *In vitro* mit einem humanen polyklonalen Blutgruppenantikörper der Klasse IgG sensibilisiert worden war. Die Elutionen wurden am selben Tag von dem selben Bediener durchgeführt.

Reproduzierbarkeit: Mit dem ALBA Elution Kit wurde ein Elutionsverfahren von zwei Bedienern an einer Erythrozytenprobe durchgeführt, die *In vitro* mit einem humanen polyklonalen Blutgruppenantikörper der Klasse IgG sensibilisiert worden war. Hierbei wurden zwei Chargen des ALBA Elution Kits zweimal täglich an fünf nicht aufeinanderfolgenden Tagen verwendet.

Die erhaltenen Eluate wurden in Antikörper-Screening-Tests mittels manueller Röhren-Serologie und Säulenagglutinationstechniken (ORTHO BioVue®, Bio-Rad ID-System) getestet. Die Ergebnisse wurden auf Äquivalenz zwischen den Testpunkten verglichen, um die Präzision der Kit-Leistung nachzuweisen.


Testmethode	Wiederholbarkeit	Reproduzierbarkeit
Manuelles Röhren	100 %	100 %
ORTHO BioVue®	100 %	100 %
Bio-Rad ID-System	100 %	100 %

LITERATUR


Rekvig OP, Hannestad K. Acid Elution of Blood Group Antibodies from Intact Erythrocytes. Vox Sang 1977; 33:280-285.

Judd WJ, Johnson ST, Storry J. Judd's Methods in Immunohematology. 4. Ausgabe Bethesda, MD: AABB Presse 2022: Kapitel 4-E, 130-134.


SYMBOLE




Recycelbar




Gebrauchsanweisung beachten




Bestellnummer




Chargennummer




Importeur




Oben




Verwendbar bis




Hersteller




Temperaturbegrenzung




Medizinprodukt für die *In-vitro*-Diagnostik




Gesundheitsgefährdung




Schwerwiegende Gesundheitsgefährdung




Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Union



CE-Kennzeichnung




Europäische Union




Bevollmächtigter Vertreter in der Schweiz


Für Benutzer in der Europäischen Union und in Ländern mit identischen regulatorischen Rahmenbedingungen (IVDR) ist jeder schwerwiegende Vorfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, dem Hersteller und/oder bevollmächtigten Vertreter sowie der zuständigen nationalen Behörde des Landes, in dem der Benutzer sesshaft ist, zu melden. Der Hersteller und der bevollmächtigte Vertreter können unter den folgenden Kontaktdaten kontaktiert werden.




Alba Bioscience Limited
5 James Hamilton Way
Milton Bridge
Penicuik
EH26 0BF - UK




Emergo Europe B.V.
Westervoortdijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands




MedEnvoy Global BV
Prinses Margrietplantsoen
33 – Suite 123
2595 AM The Hague
The Netherlands



Tel.: +44 (0) 131 357 3333
E-Mail: customer.serviceEU@quotientbd.com
Internet: www.quotientbd.com



Quotient Suisse SA
Business Park Terre Bonne
Route de Crassier 13
1262 Eysins
Switzerland



Informationen zum Kundendienst erhalten Sie unter www.quotientbd.com oder bei Ihrem Händler vor Ort.

ÄNDERUNGSHISTORIE

Version	Abschnitt	Änderung
1	K. A.	Neues Produkt