QUOTIENT

ALBA Elution Kit

Para a eluição ácida de anticorpos de eritrócitos intactos

REF **Z313** IVD CE

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O ALBA Elution Kit destina-se a ser utilizado na eluição ácida de anticorpos de glóbulos vermelhos intactos para permitir uma maior deteção e/ou identificação.

Destina-se a utilização profissional em centros de doação de sangue ou laboratórios clínicos para se realizar a eluição ácida de anticorpos relacionados com transfusões na população em geral.

Este procedimento pré-analítico é realizado manualmente.

O ALBA Elution Kit é um acessório apenas para preparação de amostras e não apresenta resultados de diagnóstico para um analito.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os anticorpos ligados aos glóbulos vermelhos *in vivo* ou *in vitro* podem ser desassociados e recuperados através de eluição ácida. Os anticorpos eluídos podem, então, ser detetados/identificados através de métodos serológicos.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Os anticorpos não ligados são removidos da amostra por meio de lavagem minuciosa com a Solução de Lavagem de Trabalho. Após a lavagem, o complexo antigénio-anticorpo é dissociado pela adição de uma Elution Solution (Solução de Eluição) de baixo pH. O eluato recuperado é, então, colocado num pH adequado para testes serológicos através da adição de uma Buffering Solution (Solução Tampão).

REAGENTE

O ALBA Elution Kit é composto por:

Identificador do Frasco	Nome	Descrição
1	Concentrated Wash Solution (Solução de Lavagem Concentrada)	Uma solução tamponada de glicina usada para minimizar a dissociação de anticorpos durante a lavagem. 1 frasco de 30 ml. Conservante: azida de sódio a 1%.
2	Elution Solution (Solução de Eluição)	Um tampão de glicina de baixo pH que contém um indicador de pH. 1 frasco de 10 ml.
3	Buffering Solution (Solução Tampão)	Uma solução de Tris (hidroximetilaminometano) que contém albumina de soro bovino. 1 frasco de 11 ml. Conservante: azida de sódio <0,1%.

Os componentes do kit podem ser trocados entre lotes, desde que estejam dentro do prazo de validade.

A albumina de soro bovino foi obtida de animais declarados isentos de Encefalopatias Espongiformes Bovinas (BSE) e considerados com baixo risco de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (TSE).

AVISOS E PRECAUÇÕES

Para utilização exclusiva em diagnóstico *in vitro*.

A utilização de equipamento/material recomendado e a estrita adesão aos procedimentos são essenciais.

Não utilize se a integridade do produto estiver comprometida.

Use equipamento de proteção individual adequado e siga os procedimentos locais de segurança no laboratório.

Não utilize após o prazo de validade (ano, mês, dia: AAAA-MM-DD).

Não utilize se estiver turvo.

Este produto tem componentes (conta-gotas) que contêm borracha natural seca. Este componente é certificado como isento de látex.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter mais informações sobre segurança.

Advertências de Perigo e Recomendações de Prudência da UE

		Palavra-sinal – Advertência
1	Concentrated Wash Solution (Solução de Lavagem Concentrada) (Contém: azida de sódio a 1%) 	H312 Nocivo em contacto com a pele. H371 Pode afetar os órgãos. H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P260 Não respirar as névoas/vapores/aerossóis. P273 Evitar a libertação para o ambiente. P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular. P308+P311 Em caso de exposição ou suspeita de exposição: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENOS/médico. P312 Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENOS/médico. P501 Eliminar em conformidade com os regulamentos nacionais.

Frases EUH

1	Concentrated Wash Solution (Solução de Lavagem Concentrada) (Contém: azida de sódio a 1%)	EUH032 Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.
3	Buffering Solution (Solução Tampão) (Contém: azida de sódio <0,1%)	EUH032 Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.

ARMAZENAMENTO, MANIPULAÇÃO E ELIMINAÇÃO

O ALBA Elution Kit deve ser armazenado entre 2-25 °C quando não estiver a ser utilizado. O armazenamento prolongado a temperaturas fora deste intervalo pode resultar numa perda acelerada da atividade do reagente. Não congele. Consulte a secção Preparação de Reagentes

QUOTIENT

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TODOS OS DIREITOS RESERVADOS

para obter recomendações quanto ao armazenamento de Solução de Lavagem de Trabalho preparada.

A azida de sódio pode ser tóxica por ingestão e pode reagir com canos de chumbo e cobre, formando compostos explosivos. Se for eliminada para a canalização, enxague com um grande volume de água para evitar a acumulação de azida.

Siga os regulamentos locais de eliminação com base na sua localização, juntamente com as recomendações e o conteúdo indicados na Ficha de Dados de Segurança, e/ou consulte as informações químicas fornecidas na secção Reagente para determinar como eliminar este produto de forma segura.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A colheita das amostras deve ser feita através de uma técnica de colheita padrão. A amostra deve ser analisada o mais rapidamente possível após a colheita. Em caso de atraso do teste, a amostra deve ser armazenada a temperaturas de refrigeração. A utilização de glóbulos vermelhos com mais de 72 horas pode resultar em menores quantidades de anticorpos recuperados. Dá-se preferência a amostras anticoaguladas recolhidas em EDTA.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Prepare a Solução de Lavagem de Trabalho diluindo a Concentrated Wash Solution (Solução de Lavagem Concentrada) 1 de 1:10 em água destilada ou desionizada (uma parte de Concentrated Wash Solution [Solução de Lavagem Concentrada] e nove partes de água). A solução é estável durante até três meses quando armazenada entre 2-8 °C, ou até 10 dias quando armazenada entre 20-25 °C. A utilização de Solução de Lavagem de Trabalho fria pode minimizar a dissociação dos anticorpos durante a lavagem.

Se estiver a preparar o volume total de 30 ml da Concentrated Wash Solution (Solução de Lavagem Concentrada) fornecida, combine com 270 ml de água.

Os outros componentes do kit são fornecidos prontos a usar.

PROCEDIMENTO

Este reagente foi padronizado para utilização apenas pelo procedimento descrito abaixo.

Material Fornecido

- ALBA Elution Kit

Materiais Necessários, mas não Fornecidos

- Água destilada ou desionizada
- Solução salina isotónica
- Pipetas
- Centrifugadora
- Tubos de ensaio de 12 x 75 mm

Procedimento de Eluição

Ao utilizar equipamento analítico suplementar (ou seja, uma centrifugadora), siga os procedimentos constantes do manual do operador fornecido pelo fabricante do dispositivo.

1. Lave uma alíquota de glóbulos vermelhos uma vez em solução salina isotónica. A alíquota deve ser suficiente para produzir 1 ml de células embaladas. Remova o máximo de solução salina possível após a lavagem.
2. Lave os glóbulos vermelhos quatro vezes com a Solução de Lavagem de Trabalho para remover qualquer anticorpo não ligado. Remova o máximo de sobrenadante possível após cada lavagem. Reserve uma pequena alíquota do sobrenadante da última lavagem como controlo para analisar em paralelo com o eluato.

   NOTA: recomenda-se a utilização de Solução de Lavagem de Trabalho para minimizar a dissociação de anticorpos durante a lavagem; contudo, pode ser utilizada solução salina isotónica, se desejado.
3. Transfira 1 ml (aproximadamente 20 gotas) dos glóbulos vermelhos lavados para um tubo limpo.
4. Adicione 1 ml (aproximadamente 20 gotas) de Elution Solution (Solução de Eluição) 2 ao tubo e misture suavemente, invertendo o tubo quatro vezes.

   NOTA: se estiver a ser utilizado um volume alternativo de glóbulos vermelhos embalados para preparar o eluato, o volume de Elution Solution (Solução de Eluição) utilizado deve ser igual ao volume de glóbulos vermelhos lavados e embalados.
5. Centrifugue imediatamente durante 60 segundos a 1000 rcf (aproximadamente 3400 rpm).*
6. Transfira o eluato para um tubo limpo e deite fora os glóbulos vermelhos.

   NOTA: se houver resíduos celulares excessivos, o eluato pode ser centrifugado novamente e transferido para um segundo tubo limpo antes de adicionar a Buffering Solution (Solução Tampão).
7. Adicione Buffering Solution (Solução Tampão) 3 ao eluato, gota a gota, misturando bem depois de cada gota até aparecer uma cor azul e esta permanecer após a mistura. A cor azul indica que o pH do eluato foi reposto dentro do intervalo adequado para testes.
8. Centrifugue o eluato durante 2 minutos a 1000 rcf (aproximadamente 3400 rpm)* para remover quaisquer resíduos celulares.
9. Transfira o eluato centrifugado para um tubo limpo.
10. Se o eluato for testado por técnicas de aglutinação em coluna, deve ser novamente centrifugado a uma velocidade e durante o tempo adequados ao método de análise e transferido para um tubo limpo.
11. O eluato está agora pronto para ser analisado.

O eluato pode ser analisado usando-se um teste convencional de antiglobulina indireta, com ou sem meios de melhoria, ou técnicas de aglutinação de coluna de acordo com os procedimentos operacionais padrão do seu laboratório ou as instruções de utilização do fabricante.

O eluato pode ser armazenado entre 2-8 °C e analisado até sete dias após a preparação.

* Ou um tempo e velocidade adequados para a centrifugadora utilizada.

CONTROLO DE QUALIDADE

Quando o anticorpo é detetado no eluato, deve ser analisada uma alíquota do sobrenadante da última lavagem como controlo. Um resultado de controlo negativo indica que qualquer anticorpo detetado no eluato foi libertado de um estado de ligação e não de qualquer anticorpo não ligado que permaneceu após uma lavagem inadequada.

Se o resultado do teste de controlo for positivo, a eluição deve ser repetida, tendo-se o cuidado de se lavar cuidadosamente os glóbulos vermelhos.

QUOTIENT

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TODOS OS DIREITOS RESERVADOS

DATA DE PUBLICAÇÃO 2023-09

LIMITAÇÕES

A quantidade de anticorpos obtida a partir do processo de eluição depende das seguintes variáveis:

1. A quantidade de anticorpos ligada aos glóbulos vermelhos.
2. O grau de dissociação dos anticorpos ligados durante o processo de lavagem.
3. O grau de recombinação de anticorpos que ocorre antes de o eluato ser separado dos glóbulos vermelhos.
4. O grau de desnaturação da imunoglobulina pela Elution Solution (Solução de Eluição) de baixo pH durante a dissociação.

O grau de hemólise presente no eluato é afetado pela exposição prolongada dos glóbulos vermelhos à Elution Solution (Solução de Eluição), bem como pelas caraterísticas específicas da amostra, como a idade e a fragilidade osmótica dos glóbulos vermelhos utilizados para se preparar o eluato.

Não se ajustar o pH do eluato para um valor dentro do intervalo adequado pode resultar em hemólise dos glóbulos vermelhos na análise ou numa inibição da atividade dos anticorpos em análises subsequentes.

A adição de uma quantidade excessiva de Buffering Solution (Solução Tampão) ao se ajustar o pH pode resultar numa diluição dos anticorpos presentes no eluato.

Outros fatores que podem levar a resultados falsos incluem a utilização de quantidades desiguais de glóbulos vermelhos embalados e Elution Solution (Solução de Eluição), uma técnica inadequada, parâmetros de centrifugação impróprios, a utilização de amostras de sangue com mais de 72 horas ou equipamento, materiais ou amostras contaminados.

Os glóbulos vermelhos utilizados no procedimento de eluição não devem ser utilizados para a tipificação de antigénios.

CARATERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

O ALBA Elution Kit foi lançado na sequência de testes de controlo de qualidade satisfatórios realizados pelo fabricante.

Estudo de Comparação

Os procedimentos de eluição foram realizados em amostras de glóbulos vermelhos sensibilizados *in vivo* e *in vitro* por IgG (RBC) utilizando-se o ALBA Elution Kit e um kit de comparação comprovado. Os eluatos obtidos foram analisados em sorologia manual de tubos, com e sem potenciação de PEG, e em técnicas de aglutinação em coluna, incluindo ORTHO BioVue® e o Sistema Bio-Rad ID, e os resultados comparados quanto à equivalência.

Tipo de Amostra	Número Analisado	Concordância (%) do ALBA Elution Kit com kit de comparação
Sensibilização *in vitro* por IgG RBC	45	100
Sensibilização *in vivo* por IgG RBC	16	100

Demonstrou-se uma equivalência de 100% nos resultados entre os eluatos produzidos pelo ALBA Elution Kit e os do kit de comparação.

Estudo de Precisão

Repetibilidade: foram realizados 10 procedimentos de eluição numa amostra de glóbulos vermelhos sensibilizados *in vitro* com um anticorpo policlonal humano da classe IgG, utilizando-se o ALBA Elution Kit. As eluições foram realizadas no mesmo dia e pelo mesmo operador.

Reprodutibilidade: um procedimento de eluição foi realizado por dois operadores numa amostra de glóbulos vermelhos sensibilizados *in vitro* com um anticorpo policlonal humano da classe IgG, utilizando-se dois lotes de ALBA Elution Kit duas vezes por dia durante cinco dias não consecutivos.

Os eluatos obtidos foram analisados em testes de triagem de anticorpos por sorologia manual de tubos e técnicas de aglutinação em coluna (ORTHO BioVue®, Sistema Bio-Rad ID) e os resultados comparados quanto à equivalência entre as ocasiões de análise para se demonstrar a precisão do desempenho do kit.

Método de Análise	Repetibilidade	Reprodutibilidade
Tubo Manual	100%	100%
ORTHO BioVue®	100%	100%
Sistema BIO-Rad ID	100%	100%

BIBLIOGRAFIA

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. 4th ed. Bethesda, MD: AABB Press 2022: Chapter 4-E, 130-134.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TODOS OS DIREITOS RESERVADOS

SÍMBOLOS

Reciclável	Consultar as instruções de utilização	Número de catálogo	Código do lote	Importador
Este lado para cima	Prazo de validade	Fabricante	Limite de temperatura	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
Perigo para a Saúde	Perigo Grave para a Saúde	Representante Autorizado na Comunidade Europeia	Marcação CE	União Europeia
Representante Autorizado na Suíça				

Para utilizadores na União Europeia e em países com um quadro regulamentar idêntico (RDIV), qualquer incidente grave ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e/ou ao representante autorizado e à autoridade nacional competente do país onde o utilizador está estabelecido. O fabricante e o representante autorizado podem ser contactados através das seguintes informações de contacto.

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

N.º de tel.: +44 (0) 131 357 3333
E-Mail: customer.serviceEU@quotientbd.com
Web: www.quotientbd.com

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

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

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

Para obter informações sobre o apoio ao cliente, consulte: www.quotientbd.com ou contacte o seu distribuidor local.

HISTÓRICO DE REVISÕES

Versão	Secção	Alteração
1	N/A	Novo produto

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TODOS OS DIREITOS RESERVADOS