

Gamma EGA™ Kit

Kit de Glicina ácida EDTA

Para dissociação de IgG dos glóbulos vermelhos

IVD Rx ONLY



Não utilizar se apresentar turvação acentuada

15°C - 30°C

Sem padrão de potência nos EUA



Solução EGA 2



Perigo, conservante: 0,1% azida sódica
Soluções EGA 1 e 3

ATENÇÃO: A EMBALAGEM DESTA PRODUTO (TAMPA CONTA-GOTAS) PODE CONTER BORRACHA NATURAL SECA.



Immucor, Inc.
3130 Gateway Drive
Norcross, GA 30071 USA

IFU 3023ptbr-5

EC REP Immucor Medizinische Diagnostik GmbH
Robert-Bosch-Strasse 32
63303 Dreieich, GERMANY

Para dissociação de IgG dos Glóbulos Vermelhos

UTILIZAÇÃO PREVISTA: O Kit Gamma EGA é utilizado na dissociação de IgG dos glóbulos vermelhos, para que estes possam ser tipificados para os seus antígenos ou utilizados em testes sorológicos.

RESUMO DO TESTE: Os glóbulos vermelhos revestidos com imunoglobulina, como na anemia hemolítica autoimune ou na doença hemolítica do recém-nascido, apresentam um teste de antiglobulina direto positivo. Como tal, não podem ser testados para os antígenos de superfície através de testes de antiglobulina indiretos nem através de reagentes contendo potenciadores de aglutinação, caso o revestimento com IgG seja suficiente para causar, nestas condições, aglutinação espontânea. A capacidade para dissociar a imunoglobulina dos glóbulos vermelhos sem diminuir a reatividade do antígeno de superfície é de grande valor, possibilitando que os glóbulos sejam tipificados, o que ajuda no reconhecimento e identificação de um ou mais aloanticorpos que coexistam com autoanticorpos no soro do paciente [1,2,3].

PRINCÍPIO DO TESTE: Em primeiro lugar, os glóbulos vermelhos revestidos com IgG deverão ser completamente lavados, depois brevemente suspensos em solução de glicina ácida EDTA para dissociar os anticorpos ligados. A mistura é imediatamente levada a pH neutro, por ação do Tampão TRIS, e os glóbulos são separados por centrifugação e lavados três vezes com solução salina. Se o teste de antiglobulina direto for negativo, os glóbulos vermelhos lavados estarão prontos para serem testados para os antígenos de superfície, através do teste da antiglobulina (ou com um reagente contendo potenciadores). O tratamento desativa os antígenos do sistema de grupo sanguíneo Kell [4], bem como Er^a [5], Bg [6] e possivelmente outros. Este reagente não desnatura antígenos sensíveis a enzimas, tais como os dos sistemas MNSs e Duffy. O método ácido com glicina EDTA é o procedimento mais indicado para tipificação de glóbulos vermelhos revestidos com aloanticorpos ou autoanticorpos IgG reativos a quente [7].

REAGENTE: O Kit Gamma EGA consiste em três soluções, em quantidade suficiente para pelo menos vinte procedimentos de dissociação de anticorpos.

- **Solução EGA 1:** Uma solução concentrada de EDTA sódico. Contém 0,1% de azida sódica como conservante.
- **Solução EGA 2:** Uma solução de glicina de pH baixo. Esta solução não contém conservantes.
- **Solução EGA 3:** Uma solução TRIS (hidroximetil)-aminometano. Contém 0,1% de azida sódica como conservante.

PRECAUÇÕES:

Para utilização em diagnóstico in vitro. Conservar à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C), quando não estiver sendo utilizado. Em salas refrigeradas, as soluções mantêm-se estáveis, apesar da refrigeração poder causar a cristalização da Solução EGA 1. Se isto acontecer, os cristais irão dissolver-se quando a solução for colocada à temperatura ambiente, sendo que esta deverá depois ser bem agitada antes da respectiva utilização. Devem ser tomadas precauções para minimizar a contaminação durante a utilização deste produto.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa ▲ = eliminação de texto

Gamma EGA™ Kit

Kit de Glicina ácida EDTA

Para dissociação de IgG dos glóbulos vermelhos

IMMUCOR

Antes de utilizar o produto verifique se a versão desta Instrução de Uso corresponde à versão informada na embalagem do produto. Para obter as Instruções de Uso também em formato impresso, sem custo adicional, contatar o Serviço de Atendimento ao Consumidor através do SAC 0800-707-3855 ou através do e-mail fresenius.br@fresenius-kabi.com

Não utilizar se apresentar turvação acentuada

Não congelar. Não utilizar além do prazo de validade.

Para Soluções 1 e 3 do Kit Gamma EGA:



Este reagente contém 0,1% de azida sódica. Aviso: H302 nocivo se ingerido

Para a Solução 2 do Kit Gamma EGA:



Este reagente é uma solução de pH baixo. Aviso: H314 Provoca queimaduras cutâneas e lesões oculares graves. H318 Provoca lesões oculares graves

Aviso: A azida sódica pode reagir com encanamentos de chumbo e cobre e formar compostos metálicos altamente explosivos. Se for despejada em um lavatório, lave com uma grande quantidade de água para evitar que a azida se acumule.

Os componentes podem ser trocadas entre lotes, desde que se encontrem dentro do prazo de validade.

ATENÇÃO: A embalagem deste produto (tampa de conta-gotas) pode conter borracha natural seca

O formato para a data de validade é AAAA-MM-DD (ano-mês-dia).

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA: Não é necessária qualquer preparação específica do paciente antes da coleta da amostra. O sangue deve ser coletado através de uma técnica asséptica e deve ser testado, preferencialmente, enquanto ainda se encontra fresco. Caso não seja testado imediatamente deverá ser conservado entre 1 °C a 10 °C, preferencialmente por não mais de 72 horas. Os glóbulos vermelhos de amostras de sangue armazenadas durante mais de 72 horas, podem apresentar uma hemólise aumentada ao serem tratados de acordo com o procedimento recomendado.

É preferível uma amostra em anticoagulante, quando se tratarem de indivíduos cujos glóbulos vermelhos são revestidos in vivo, dado o volume de glóbulos vermelhos necessários para o procedimento. É recomendado o uso de EDTA como anticoagulante. Também são aceitáveis amostras desfibrinadas.

PROCEDIMENTO:

Materiais Fornecidos: Gamma EGA Kit

Outros Materiais Necessários: Tubos de ensaio, pipetas, solução salina isotônica ou isotônica tamponada com fosfato (aproximadamente 15 mM), pH 6,5-7,5, cronômetro e centrífuga.

MÉTODO DE TESTE:

NOTA: O procedimento de tratamento descrito pode ser igualmente aplicado à tipificação de glóbulos vermelhos não revestidos com IgG, com o objetivo de destruir a reatividade dos antígenos do Sistema Kell, a fim de ajudar na identificação de anticorpos. Nesse caso, não é necessário executar o Passo 9 do procedimento seguinte.

1. Lavar os glóbulos vermelhos três vezes em solução salina e ressuspendê-los numa concentração de 3% a 5%.
2. Colocar 30 gotas da suspensão de glóbulos vermelhos num tubo de ensaio limpo.
3. Centrifugar para compactar os glóbulos vermelhos o máximo possível e remover cuidadosamente o sobrenadante sem perturbar as células. A título indicativo, um minuto a 3400 rpm (900 a 1000 fcr) deverá ser o suficiente para compactar os glóbulos vermelhos.
4. Num outro tubo de ensaio, preparar a solução de glicina ácida EDTA, adicionando 4 gotas de Solução EGA 1 e 16 gotas de Solução EGA 2.
5. Adicionar imediatamente a solução de glicina ácida EDTA recém preparada aos glóbulos vermelhos compactados e lavados e agitar suavemente.
6. Acionar o cronômetro e deixar a mistura à temperatura ambiente (23 °C ± 3°C), não mais do que dois minutos. Se os glóbulos vermelhos se tornarem escuros ou se agruparem após esta exposição, poderá ser necessário diminuir o tempo de tratamento (em incrementos de 15 segundos), até que os resultados do teste não demonstrem um agrupamento ou escurecimento acentuado dos glóbulos vermelhos.
7. Adicionar de imediato 4 gotas de Solução EGA 3, misturar energicamente e centrifugar durante 30 segundos a 3400 rpm (900 a 1000 fcr).
8. Remover e rejeitar o sobrenadante; em seguida, suspender os glóbulos tratados em solução salina. Se neste ponto do tratamento os glóbulos vermelhos não estiverem agrupados ou escurecidos (ver Passo 6), proceder à lavagem dos glóbulos vermelhos, pelo menos, três vezes com solução salina.

NOTA: Apesar do sobrenadante removido dos glóbulos vermelhos tratados poder conter anticorpos eluídos, estes estão substancialmente diluídos. Assim, não é recomendado que seja tratado como uma eluição (por ex., usado para determinar a especificidade dos anticorpos de revestimento).

9. Executar um teste de antiglobulina direto nos glóbulos lavados e tratados. Se este for negativo, proceder ao teste da antiglobulina indireto dos glóbulos para os antígenos pretendidos, seguindo as instruções do fabricante do reagente.

NOTA: O tratamento com EGA provocará tendencialmente um aumento da hemólise dos glóbulos vermelhos assim preparados. Desta forma, se ocorrer algum atraso entre a lavagem dos glóbulos vermelhos e o teste de tipificação antigênica, poderão ser necessárias mais lavagens antes da respectiva utilização.

Se o teste direto da antiglobulina nos glóbulos vermelhos tratados ainda for positivo após um tratamento, o procedimento pode ser repetido, mas não mais do que uma vez. Note que a exposição prolongada a condições ácidas pode causar lesões irreversíveis na membrana celular.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Como prova de que o(s) antígeno(s) a serem testados nos glóbulos vermelhos não são destruídos pelo tratamento, recomenda-se que os glóbulos vermelhos antígenos-positivos, conhecidos e adequados, sejam tratados em paralelo com glóbulos vermelhos revestidos com IgG e testados com os respetivos reagentes para efeitos de controle positivo. Caso o laboratório confirme previamente que os antígenos não são destruídos pelo tratamento, este controle poderá não ser efetuado.

Recomenda-se ainda que seja executado em paralelo um teste de antiglobulina indireto com um reagente de controle inerte, tal como albumina bovina a 6%, a fim de confirmar que o revestimento com imunoglobulina foi removido com sucesso dos glóbulos vermelhos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE: Se o teste direto de antiglobulina dos glóbulos vermelhos for negativo após o tratamento, estes podem ser testados para tipificação dos antígenos (outros que não os destruídos pelo tratamento) através do procedimento da antiglobulina indireto.

LIMITAÇÕES: Fatores que podem causar resultados de teste falsos incluem:

1. O tratamento dos glóbulos vermelhos deve ser limitado ao número de vezes recomendadas neste folheto informativo. Prolongar a incubação dos glóbulos vermelhos em meio ácido de glicina EDTA irá alterar irreversivelmente a membrana celular. O escurecimento acentuado dos glóbulos ou o seu agrupamento poderão ser indicadores de tratamento excessivo.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa ▲ = eliminação de texto

2. O tratamento de glóbulos vermelhos por este procedimento incapacita-os de serem tipificados para os antígenos do sistema Kell. Esta característica poderá ser vantajosa, numa situação em que uma amostra em investigação contenha uma mistura de anticorpos suspeita de incluir especificidades pertencentes ao sistema Kell. Em tais circunstâncias, glóbulos vermelhos não revestidos tipificados, poderão ser tratados e usados em procedimentos de identificação de anticorpos.
3. Existem também registos de que os antígenos do grupo sanguíneo Er^a e Bg se tornaram inativos devido ao tratamento. Outros antígenos podem ser igualmente prejudicados. Os únicos antígenos que demonstraram não ser desnaturados ou destruídos pelo processo de tratamento são: M, N, S, s, D, C, E, c, e, Fy^a, Fy^b, Jk^a e Jk^b.
4. Em alguns casos, o procedimento descrito poderá não obter sucesso na remoção completa do IgG dos glóbulos vermelhos revestidos. Por vezes, a intensidade do teste da antiglobulina direto (TAD) pode ser reduzida, mas apenas o suficiente para tornar possível a interpretação fidedigna de um teste de antiglobulina indireto. Noutros casos, a intensidade da reação do TAD pode não ser perceptivelmente reduzida. Em dois estudos publicados, é descrito que os glóbulos vermelhos tratados uma ou duas vezes com soluções similares às que constituem Kit Gamma EGA, não podem ser usados para fenotipificação em 15% [1] e em 18% [2] dos casos, respetivamente.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO: As soluções que constituem o Kit Gamma EGA foram testadas pelo procedimento detalhado neste folheto informativo e mostraram dissociar o IgG dos glóbulos vermelhos revestidos. A dissociação é suficiente, na maioria dos casos, para possibilitar que os glóbulos tratados possam ser testados para os antígenos de superfície (exceto para aqueles destruídos pelo tratamento), usando o teste da antiglobulina indireto. Os glóbulos não revestidos, também mostraram perder os antígenos K e k do sistema Kell, como consequência do tratamento. O desempenho deste produto depende da aplicação dos métodos recomendados neste folheto informativo.

Para obter mais informações ou apoio técnico, contate a Immucor pelo telefone 855-IMMUCOR (466-8267) ou o distribuidor local.

BIBLIOGRAFIA:

1. Louie JE, Jiang AF, Zaroulis CG. Preparation of intact antibody-free red blood cells in autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion* 1986; 26:550 [abstract].
2. Kosanke J, McDowell MA, Stocker I. Treatment of DAT positive red cells with EDTA-glycine acid for antigen typing. *Transfusion* 1989; 29:57S [abstract].
3. Pallas C, Wiler M, McGee B. Comparison of glycine acid-EDTA to chloroquine diphosphate for IgG removal. *Transfusion* 1991; 31: 27S [abstract].
4. Julleis J, Sapp C, Kakaiya R. Glycine-EDTA as a substitute for AET in the inactivation of Kell System antigens on red blood cells. *Transfusion* 1992; 32:14S [abstract].
5. Liew YW, Uchikawa M. Loss of Er^a antigen in very low pH buffers. *Transfusion* 1987; 23:442-443 [letter to the Editor].
6. Champagne K, Spruell P, Chen J, Voll L, Schlanser G. EDTA glycine-acid vs chloroquine diphosphate treatment for stripping Bg antigens from red blood cells. *Transfusion* 1996; 36:21S [abstract].
7. Burin des Rozières N, Squalli S. Removing IgG antibodies from intact red cells: comparison of acid and EDTA, heat and chloroquine elution methods. *Transfusion* 1997; 37:497-501.



Código do folheto informativo: 3023ptbr-5
Revisão: 03/17

Importado e Distribuído no Brasil por:

Fresenius Hemocare Brasil Ltda.

Rua Roque Gonzáles, 128, Jd. Branca Flor,

06855-690, Itapeverica da Serra, Brasil

CNPJ: 49.601107/0001-84

Responsável Técnica: Mary M. Yamauchi - CRF/SP 13.956

Registro MS: 10154450202

SAC 0800-707-3855