





# Gamma-Quin®

## Solução de difosfato de cloroquina

Para remoção de imunoglobulinas ligadas aos glóbulos vermelhos

- IVD
- 1°C  10°C
- Rx ONLY
- 
- Sem padrão de potência nos EUA  
Rejeitar se apresentar turvação
- A embalagem deste produto (tampa conta-gotas) pode conter borracha natural seca. PODE CAUSAR ALERGIA.

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

 Immunacor Medizinische Diagnostik GmbH  
Robert-Bosch-Strasse 32  
63303 Dreieich, GERMANY

### IFU 3027ptbr-4

#### UTILIZAÇÃO:

Para remoção das Imunoglobulinas ligadas aos Glóbulos Vermelhos

A Solução de Difosfato de Cloroquina, Gamma-Quin é indicada para a remoção de imunoglobulinas ligadas aos glóbulos vermelhos.

**SUMÁRIO DO TESTE:** Dificuldades na execução de estudos antigênicos em glóbulos vermelhos com um teste de antiglobulina direto positivo podem ser um obstáculo para a investigação completa de alguns problemas sorológicos. Quando a proteína que reveste os glóbulos vermelhos é IgG, a fenotipagem com reagentes por teste de antiglobulina indireto é impossível, e os testes para outros antígenos, apenas podem ser realizados, se existirem reagentes apropriados reativos em salina (fabricados a partir de IgM ou de IgG quimicamente modificado), ou estiverem disponíveis reagentes monoclonais para grupagem sanguínea.

Em 1964, Domokos e Aszódi estudaram o efeito da cloroquina em reações antígeno-anticorpo nos glóbulos vermelhos [1], e a sua influência *in vivo* na reação antígeno-anticorpo no Rh(D) [2]. A cloroquina é um derivado da quinolina normalmente usada como um agente anti-malária, que também tem sido usado empiricamente no tratamento de várias doenças imunes. Em 1976, Mantel e Holtz estudaram o uso do difosfato de cloroquina como agente *in vitro*, para remover auto-anticorpos de glóbulos vermelhos de pacientes com anemia hemolítica auto-imune, e obtiveram assim eluatos reativos, através deste procedimento [3]. Na maioria dos casos de anemia hemolítica auto-imune idiopática, os auto-anticorpos podem ser completamente separados dos glóbulos vermelhos, pela incubação com uma solução de difosfato de cloroquina, resultando num teste negativo de antiglobulina direto, após o tratamento. Em pacientes com anemia hemolítica auto-imune sintomática, após a incubação com cloroquina, são obtidos eluatos fortemente reativos, em que o teste de antiglobulina permanece positivo na maioria dos casos, como em dois casos de doadores de sangue, aparentemente saudáveis e com glóbulos vermelhos revestidos com auto-anticorpos, e em dois pacientes com doenças não relacionadas com a hemólise. Edwards, Moulds e Judd aplicaram o procedimento com cloroquina, como um meio para remover anticorpos em número suficiente, dos glóbulos vermelhos revestidos com imunoglobulina, para permitir que os glóbulos tratados possam ser testados com reagentes de grupagem sanguíneas reativos pelo método de antiglobulina indireto [4]. Apesar da cloroquina não ser capaz de remover completamente os auto-anticorpos dos glóbulos vermelhos, em todos os casos, com o teste de antiglobulina direto positivo, a remoção parcial pode ser suficiente, para permitir que os glóbulos sejam estudados, para fenotipagem alargada, ou para ser usada com sucesso na auto adsorção de anticorpos reativos a quente.

**PRINCÍPIO DO TESTE:** Os glóbulos vermelhos que têm um teste de antiglobulina direto positivo, são incubados com uma solução iso-osmótica de difosfato de cloroquina à temperatura ambiente, até um máximo de 2 horas, e depois lavados e suspensos em soro fisiológico. Após o tratamento com cloroquina, a reatividade dos antígenos é relativamente pouco afetada, como foi avaliado em reações obtidas com reagentes que cumpriam os requisitos de potência da FDA, e são reativos num meio de elevado teor proteico ou pelo teste de antiglobulina indireto. Deste modo, nos casos em que o teste da antiglobulina direto se torna negativo, após o tratamento, os glóbulos vermelhos podem ser fenotipados com reagentes de elevado teor proteico ou com os que são reativos, pelo teste de antiglobulina indireto. Reagentes de grupagem sanguínea monoclonais ou

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa; ▲ = eliminação de texto

# Gamma-Quin®

## Solução de difosfato de cloroquina



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](mailto:fresenius.br@fresenius-kabi.com)

reativos em salina (feitos a partir de IgG quimicamente modificado ou de IgM), podem apresentar reações mais fracas, com glóbulos vermelhos tratados com cloroquina, do que o esperado com glóbulos não tratados. Contudo, e por esta razão, é recomendado que a fenotipagem antigênica não seja realizada com estes reagentes, após o tratamento. Em qualquer dos casos, a aglutinação espontânea de glóbulos vermelhos revestidos com imunoglobulinas é relativamente rara, em testes realizados com reagentes de baixo teor proteico. Na maioria dos casos, não é necessário o tratamento com cloroquina para executar a fenotipagem antigênica dos glóbulos vermelhos com teste de antiglobulina direto positivo, porque estão disponíveis reagentes monoclonais ou reagentes em salina, da especificidade requerida. Dependendo do desempenho de um controle adequado em detectar a auto-aglutinação espontânea (como recomendado no folheto informativo, pelo fabricante do reagente), os testes com os reagentes monoclonais e com os reativos em salina podem ser executados, sem o tratamento prévio com cloroquina, em glóbulos vermelhos revestidos com imunoglobulinas. Glóbulos vermelhos tratados com cloroquina podem também ser usados, antes do teste, em procedimentos de auto-adsorção de anticorpos reativos a quente do soro do paciente, para detectar a presença de alo-anticorpos. Mesmo quando o efeito do tratamento, só remove parcialmente a imunoglobulina ligada, a intensidade da reação do teste de antiglobulina direto pode ser suficientemente reduzida, de modo a permitir a interpretação dos resultados de teste obtidos nos procedimentos de grupagem sanguínea, ou a melhorar a eficácia da auto-adsorção a quente. O tratamento não remove completamente os glóbulos vermelhos dos componentes, mas não interfere com os testes de antiglobulina indiretos executados com reagentes anti-IgG.

**REAGENTE:** O Gamma-Quin é uma solução com aproximadamente 16% de Difosfato de Cloroquina, em soro fisiológico tamponado a pH de 5,0±0,1. Não contém conservantes.

#### PRECAUÇÕES:

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Conservar entre 1° e 10°C entre as utilizações. Não diluir. Não congelar. Deverão ser tomadas precauções no sentido de minimizar a contaminação durante a utilização deste produto. Não utilizar para além do prazo de validade.

Rejeitar se apresentar turvação

A embalagem deste produto (tampa conta-gotas) pode conter borracha natural seca. PODE CAUSAR ALERGIA

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

**COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA:** Antes da coleta da amostra não é necessária qualquer preparação especial do paciente. O sangue deve ser coletado utilizando uma técnica de flebotomia adequada, de preferência em anticoagulante, e as amostras devem ser testadas, logo que possível, após a coleta. As amostras que não possam ser testadas de imediato devem ser armazenadas a 1°-10°C. A contaminação bacteriológica da amostra pode dar origem a resultados falsos. Amostras coletadas em EDTA não devem ser conservadas por mais de sete dias. É aconselhável testar amostras coletadas em oxalato ou heparina até dois dias, após a coleta. As amostras coaguladas podem ser utilizadas, apesar da dificuldade na obtenção do volume necessário de glóbulos vermelhos, para execução do teste.

Glóbulos vermelhos de amostras coaguladas ou de amostras coletadas com ACD ou CPD, podem ser tratados até 21 dias após a coleta.

#### PROCEDIMENTO:

Material fornecido: Solução de Difosfato de Cloroquina, Gamma-Quin  
Outros materiais necessários: Tubos (12x75 mm são recomendados), pipetas, soro fisiológico isotônico não tamponado ou tamponado com fosfato (aproximadamente 15 mM), pH 6,5-7,5, cronômetro e centrífuga. Antiglobulina Humana e Reagentes de Grupagem Sanguínea apropriados para qualquer teste adicional requerido.

#### MÉTODO DE TESTE:

1. Preparar os glóbulos vermelhos a serem tratados, lavando-os em volumes suficientes de soro fisiológico, pelo menos três vezes, para remover o plasma ou soro humano. Tente obter um mínimo de 0,5 mL, dos glóbulos vermelhos concentrados. Se os glóbulos tratados são necessários para auto-adsorção a quente, será preciso um volume superior, e o volume de Gamma-Quin adicionado no ponto 3, deverá ser ajustado corretamente. A razão entre o reagente e os glóbulos vermelhos concentrados e lavados, deve ser de 4:1.
2. Colocar 10 gotas (aproximadamente 0,5 mL) dos glóbulos vermelhos concentrados e lavados, num tubo devidamente rotulado.
3. Adicionar 40 gotas (aproximadamente 2,0 mL) de Gamma-Quin e homogeneizar.
4. Incubar à temperatura ambiente até um máximo de duas horas (23°C±3°C). O tempo necessário para a dissociação varia de paciente para paciente. Trinta minutos é o tempo mínimo, em que pode ocorrer, uma dissociação significativa da imunoglobulina. Pode ser executado um teste de antiglobulina direto aos glóbulos vermelhos a serem tratados, com intervalos de trinta minutos, para monitorizar o progresso da dissociação. Não exceder o tratamento para além das duas horas.
5. Lavar os glóbulos em soro fisiológico, pelo menos três vezes, para remover a solução de cloroquina. Em algumas amostras, pode ser observada uma ligeira hemólise, que pode ser desprezada. NOTA: Podem ser necessárias mais de três lavagens se o teste for realizado num tubo menor que o recomendado.
6. Executar um teste de antiglobulina direto, para verificar se o anticorpo foi dissociado suficientemente e permite uma segura fenotipagem dos glóbulos vermelhos.
7. Para testes adicionais, suspender os glóbulos vermelhos numa concentração de 3-4% em soro fisiológico. Se os glóbulos vermelhos são para utilização em procedimentos de auto-adsorção a quente, devem ser concentrados. Os glóbulos vermelhos podem ser tratados com uma enzima, antes de serem usados em procedimentos de auto-adsorção.

**CONTROLE DE QUALIDADE:** O único controle necessário é o teste de antiglobulina direto aos glóbulos vermelhos, após tratamento, como o recomendado no ponto 6 do procedimento de tratamento. Não irá ser negativo em todos os casos, mas a intensidade pode ser suficientemente reduzida pelo tratamento, de forma a permitir uma interpretação segura dos testes de grupagem sanguíneas executados, ou para que os glóbulos vermelhos tratados possam ser usadas eficazmente na auto-adsorção a quente. O procedimento de dissociação da cloroquina pode não ser bem-sucedido em todos os casos, mas uma falha persistente do tratamento para reduzir a intensidade do teste de antiglobulina direto em glóbulos sensibilizados *in vivo* de diferentes pacientes, pode ser um indicador da deterioração do produto. A sua eficácia pode ser testada, pela incubação de glóbulos vermelhos D+ com anti-D e testada depois a dissociação do revestimento pelo anticorpo, com a aplicação do procedimento de tratamento. Os glóbulos vermelhos sensibilizados com anticorpos *in vitro* são normalmente mais resistentes à dissociação, do que no caso da maioria dos auto-anticorpos, em que uma redução significativa na intensidade da reação de antiglobulina, após o tratamento, poderá indicar que o produto ainda está eficaz.

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS POR TRATAMENTO:** Glóbulos vermelhos tratados, que apresentam um teste de antiglobulina direto negativo, é uma indicação de que a imunoglobulina foi completamente dissociada, e de que os glóbulos tratados podem ser fenotipados pelo procedimento do teste de antiglobulina indireto ou com reagentes que contenham potenciadores capazes, de causarem uma aglutinação espontânea dos glóbulos vermelhos revestidos com imunoglobulina. Após o tratamento, uma redução substancial na intensidade do teste de antiglobulina direto, pode auxiliar um estudo adicional dos glóbulos vermelhos do paciente, ou pode tornar o procedimento de auto-adsorção a quente mais eficaz.

A reatividade de alguns antígenos anti-eritrocitários pode ser um pouco enfraquecida pelo tratamento com cloroquina. Edwards, Moulds e Judd, no seu relatório original, não notaram nenhuma perda de reatividade, medida pelo teste da antiglobulina indireto, com reagente de anticorpos titulados [4]. Contudo, um relatório posterior de Sasseti e Nicholls, deu a indicação de que resultados de testes falso-negativos, podem ocorrer, quando se testam com reagentes de Rh, fabricados a partir de IgG quimicamente modificado [5], glóbulos tratados com cloroquina. Enquanto não for necessário o tratamento preliminar dos glóbulos vermelhos sensibilizados com imunoglobulina, para a obtenção de resultados válidos com reagentes reativos em salina (feitos a partir de IgG quimicamente modificado ou de IgM), esta observação indicou que o tratamento com cloroquina pode ser acompanhado por alguns danos na superfície das estruturas antigênicas, que sendo ou não regulares, podem ser detectáveis na rotina do teste.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa; ▲ = eliminação de texto

Relatórios mais recentes [6,7], têm sugerido que o tratamento com cloroquina pode causar resultados de teste falso-negativos, mesmo quando se utiliza o teste de antiglobulina indireto para a fenotipagem antigênica. McShane e Cornwall [7] advertem para o uso de anticorpos, de dador individual, com baixo título ou avidéz, para tipar glóbulos vermelhos tratados com cloroquina e defenderam a ideia, que os Reagentes de Grupagem Sanguínea aprovados, podem ser considerados seguros para este propósito. Contudo, pode ser aceitável, que mesmo um reagente de anticorpos titulados, pode produzir reações enganosas, quando usado para testar glóbulos vermelhos tratados com cloroquina, se o antígeno relacionado, por acaso, apresentar de início uma fraca expressão. Com base nas observações anteriores, deve-se ter cuidado na interpretação de resultados de procedimentos de fenotipagem antigênica em glóbulos vermelhos tratados com cloroquina.

Se o teste de antiglobulina direto com Antiglobulina Humana Anti-IgG-C3d; polisspecífica permanece positivo, após o tratamento com cloroquina, deve ser considerada a possibilidade de que apenas os componentes do complemento, permanecem ligados às células. O teste de antiglobulina direto deve ser realizado com Antiglobulina Humana Anti-IgG. Se apresentar um resultado negativo, a fenotipagem antigênica pode ser considerada segura com Antiglobulina Humana Anti-IgG.

Se o procedimento de tratamento não reduzir significativamente a intensidade da reação de antiglobulina direta com reagentes Antiglobulina Humana Anti-IgG, neste caso, este método não pode ser usado para dissociar anticorpos.

**LIMITAÇÕES:** Como em todos os testes sorológicos, fatores como materiais contaminados, tempo ou temperatura de incubação inadequados, centrifugação imprópria, má interpretação de aglutinações e a não observância dos procedimentos recomendados para o teste, podem dar origem a resultados de teste falsos. Adicionalmente:

1. O procedimento de tratamento em duas horas, na redução do resultado do teste de antiglobulina direto a negativo, pode não ser bem-sucedido em todos os casos. O prolongamento do tratamento, ou a sua repetição em glóbulos tratados uma só vez, pode resultar na diminuição da reatividade do antígeno.
2. Os componentes do complemento não são dissociados dos glóbulos vermelhos pelo tratamento.
3. Pode ocorrer hemólise durante o tratamento com algumas amostras de sangue, fato que pode ser ignorado se não for excessivo. A hemólise pode estar associada à idade da amostra a ser testada, à natureza do anticoagulante em que foi coletada ou, em casos isolados, ao aumento de fragilidade dos glóbulos vermelhos a serem testados.
4. A fenotipagem antigênica em glóbulos vermelhos tratados com cloroquina, deve ser interpretada com cuidado, uma vez que as reações podem ser mais fracas do que com glóbulos não tratados, mesmo quando se usam reagentes reativos em antiglobulina ou de elevado teor proteico, que cumpram os requisitos de potência da FDA. Reagentes de grupagem sanguínea monoclonais ou reativos em salina (feito a partir de IgG quimicamente modificado ou de IgM) não devem ser utilizados para a fenotipagem antigênica em glóbulos vermelhos tratados com cloroquina, pois as reações podem ser visivelmente mais fracas que o esperado, dando origem à possibilidade de resultados negativos falsos.
5. Foi sugerida uma alternativa para o uso do difosfato de cloroquina em sorologia de grupagem sanguínea, ou seja, a remoção dos vulgarmente denominados antígenos Bg dos glóbulos vermelhos, como ajuda na identificação de anticorpos [8]. Este método é baseado na observação de que os antígenos HLA podem ser removidos das plaquetas e dos neutrófilos, pelo tratamento com cloroquina, e que pode ser bem-sucedido na redução da reatividade de antígenos Bg dos glóbulos vermelhos. Os resultados obtidos nesta aplicação devem ser interpretados cuidadosamente, uma vez que existe a clara evidência de que a reatividade, pelo tratamento com cloroquina pode ser diminuída na superfície dos glóbulos vermelhos, o que pode conduzir a uma reação negativa com um anticorpo mais fraco que não o de especificidade "anti-Bg".

**CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO:** A Solução de Difosfato de Cloroquina, Gamma-Quin é testada e, quando usada de acordo com os procedimentos de tratamento recomendados, dissocia a IgG ligada *in vivo* e *in vitro* aos glóbulos vermelhos humanos. Este efeito é conseguido sem reduzir visivelmente a reatividade nas células tratadas, dos antígenos dos grupos sanguíneos vulgarmente herdados, como o avaliado com os Reagentes de Grupagem Sanguínea aprovados, reativos num sistema de teste de elevado teor proteico ou pelo teste de antiglobulina indireto. A capacidade do reagente para remover os vulgarmente denominados antígenos Bg dos glóbulos vermelhos, não é testada. Estes são sujeitos a uma grande variação na intensidade da sua expressão, e não seria possível generalizar a eficácia do procedimento com base no teste de apenas alguns exemplos de células "Bg+". O desempenho deste produto depende da aplicação dos métodos recomendados neste folheto informativo. Para a obtenção de informação adicional ou apoio técnico, contactar os Serviços Técnicos da Immucor pelo telefone 855- 466-8267.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Domokos V, Aszódi L. The effect of chloroquine on the isoantibody reaction of red blood cells. Haemat Hung 1964; 4:179-186.

2. Domokos V, Aszódi L. The in vivo influencing of Rh(D) antigen-antibody reaction by chloroquine. *Haemat Hung* 1964; 4:355-360.
3. Mantel W, Holtz G. Characterisation of autoantibodies to erythrocytes in autoimmune haemolytic anaemia by chloroquine. *Vox Sang* 1976; 30:453-463.
4. Edwards JM, Moulds JJ, Judd WJ. Chloroquine dissociation of antigen-antibody complexes: A new technic for typing red blood cells with a positive direct antiglobulin test. *Transfusion* 1982; 22:59-61.
5. Sasseti R, Nicholls D. Decreased antigen reactivity caused by chloroquine. (Letter to the editor.) *Transfusion* 1982; 22:537-538.
6. Mallory D, Reid M. Misleading effects of chloroquine. (Letter to the editor.) *Transfusion* 1984; 24:412.
7. McShane K, Cornwall S. Chloroquine reduces antigen strength. (Letter to the editor.) *Transfusion* 1985; 25:83.
8. Swanson JL, Sastamoinen R. Chloroquine stripping of HLA A,B antigens from red cells. (Letter to the editor.) *Transfusion* 1985; 25:439-440.



Versão das Instruções de uso:3027ptbr-4  
Rev 3/2017

Registrado 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: 10154450190

SAC 0800-707-3855

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa; ▲ = eliminação de texto