

GammaZyme-B™

Solução Estabilizada de Bromelina

Para utilização em Sorologia de Grupos Sanguíneos

IVD Rx ONLY



10°C
1°C



Perigo, Conservante: 0.1% Azida Sódica

Rejeitar se apresentar turvação

ATENÇÃO: A EMBALAGEM DESTE PRODUTO (CONTA-GOTAS) PODE CONTER BORRACHA NATURAL SECA



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

EC REP

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

IFU 3028-6

GammaZyme-B™

Solução Estabilizada de Bromelina

Para utilização em Sorologia de Grupos Sanguíneos



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

UTILIZAÇÃO PREVISTA:

Para utilização em Sorologia de Grupos Sanguíneos

O GammaZyme-B é indicado para utilização num sistema de teste enzimático de uma fase, para a detecção de anticorpos de grupo sanguíneo.

RESUMO DO TESTE: As enzimas proteolíticas, dentre elas a bromelina, possuem a capacidade de modificar os glóbulos vermelhos, de tal modo que possibilitam a aglutinação direta por parte de alguns anticorpos IgG, quando suspensos em meio salino. Considera-se que o efeito é devido, em parte, à remoção do ácido siálico da membrana, reduzindo assim a carga superficial resultante e diminuindo a repulsão entre anticorpo e antígeno [1]. Os fatores que contribuem para este efeito, podem incluir a clivagem ou a remoção de cadeias polipeptídicas, provocando uma diminuição do impedimento estérico e resultando possivelmente na exposição de mais locais antígeno, conduzindo a um aumento de captação de anticorpo [2].

O tratamento enzimático dos glóbulos vermelhos para utilização num procedimento de detecção de anticorpos pode ser realizado como um teste de uma ou de duas fases. O método de uma fase envolve incubar em conjunto o soro a ser testado, a enzima a ser utilizada e os glóbulos vermelhos a serem tratados, enquanto no método de duas fases, os glóbulos vermelhos são primeiramente lavados e depois pré-tratados com a enzima escolhida, que é posteriormente lavada antes dos glóbulos vermelhos tratados serem incubados com o soro. A abordagem de uma fase possui algumas desvantagens importantes. Estas incluem a inibição do efeito da enzima nos glóbulos vermelhos devido à presença de inibidores de enzimas no soro humano, bem como a tendência das enzimas proteolíticas clivarem a molécula de imunoglobulina. A técnica de duas fases é considerada geralmente mais sensível do que um procedimento de uma fase, contudo, a sua realização é menos conveniente. Se for utilizado um método de uma fase, a bromelina é a enzima mais frequentemente escolhida, uma vez que parece ser menos suscetível aos efeitos inibidores do soro humano.

Alguma atividade antigênica do grupo sanguíneo (especialmente dos antígenos M, N, Fy^a, Fy^b e Xg^a) é diminuída, de modo acentuado, pelo tratamento com protease, mas os antígenos Rh, P, Lewis e Kidd apresentam reatividade aumentada, especialmente em testes diretos de aglutinação após a incubação. A mesma reatividade aumentada pode nem sempre ser observada na fase antiglobulina com todos os anticorpos mas, por outro lado, um teste indireto de antiglobulina realizado, após a incubação, com glóbulos vermelhos, tratados com enzima, é reportado como sendo a técnica mais sensível para detectar certas especificidades. Quando o complemento está presente no sistema de teste, alguns anticorpos anti-eritrocitários (principalmente anti-Le^a, anti-Jk^a, anti-Vel, anti-P e anti-PP₁P^K, assim como anti-A e anti-B) podem mostrar uma tendência para hemolisar glóbulos vermelhos positivos para o antígeno. Esta tendência é consideravelmente aumentada pelo tratamento enzimático dos glóbulos vermelhos, e será portanto, observada mais frequentemente num sistema de teste enzimático.

PRINCÍPIO DO TESTE: A utilização de bromelina num procedimento de teste de uma fase aumenta a reatividade de alguns antígenos eritrocitários, melhorando desta forma, a detecção dos anticorpos correspondentes. Ao mesmo tempo, alguns antígenos eritrocitários, ficam inativos pelo tratamento com bromelina, o qual diminui a reatividade dos glóbulos vermelhos com anticorpos correspondentes. Estas características podem ser aplicadas para facilitar a detecção de exemplos fracos de determinados anticorpos e para auxiliar no reconhecimento de misturas de anticorpos, por inibição da reatividade de determinadas especificidades.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa ▲ = eliminação de texto

REAGENTE: GammaZyme-B é uma solução estabilizada de bromelina preparada num diluente tamponado que contém azida sódica com uma concentração final de 0,1% como conservante.

PRECAUÇÕES:

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Armazenar entre 1°C e 10°C entre utilizações. Não congelar nem permitir que esteja à temperatura ambiente durante períodos prolongados, pois pode ocorrer perda de reatividade. Não diluir. Não utilizar após o prazo de validade. Pode desenvolver-se uma mudança de cor durante o período de validade. No entanto, a descoloração que exceda uma cor âmbar ou o desenvolvimento de turvação, podem ser sinais de deterioração do produto. Deverão ser tomadas precauções no sentido de minimizar a contaminação durante a utilização deste produto.

Rejeitar se apresentar turvação



Este reagente contém 0,1% de azida sódica.

Aviso: H302 nocivo se ingerido.

Aviso: A azida sódica pode reagir com encanamentos de cobre e chumbo 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.

Rejeitar se apresentar turvação

ATENÇÃO: A EMBALAGEM DESTE PRODUTO (CONTA-GOTAS) PODE CONTER BORRACHA NATURAL SECA

Para obter precauções específicas associadas ao método automatizado de teste de grupo sanguíneo, consulte as informações fornecidas no manual de operação do equipamento.

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA: Não é necessária qualquer preparação especial do paciente para a coleta da amostra. O sangue deve ser coletado utilizando uma técnica asséptica e deve ser testado logo que possível. As amostras que não possam ser testadas imediatamente, devem ser armazenadas entre 1°C e 10°C. Os glóbulos vermelhos a serem tratados com bromelina, devem ser de amostras de sangue coletadas num anticoagulante adequado (EDTA, heparina ou oxalato), armazenadas há não mais de 48 horas entre 1°C e 10°C, de um dador de sangue ou de Reagentes de Glóbulos Vermelhos comerciais que se encontrem na validade, ou de sangue coagulado há até 21 dias. O soro ou plasma a serem testados através de um procedimento de teste de uma fase com bromelina, devem ser separados assim que possível após a coleta. No caso de se tratarem de amostras de pacientes ou potenciais recetores de transfusão, só podem ser conservadas durante o tempo permitido pela legislação em vigor.

Para teste(s) automatizados de grupos sanguíneos que utilize(m) GammaZyme-B, consultar o(s) folheto(s) informativo(s) do(s) Reagente(s) de Grupo(s) Sanguíneo(s) aplicável(eis) no que diz respeito à coleta e preparação de amostras.

PROCEDIMENTO:

Materiais Fornecidos: GammaZyme-B

Materiais Adicionais Necessários para o Método Manual: Tubos de teste (12x75 mm ou 10x75 mm), pipetas, solução salina isotônica ou salina isotônica de pH 6,5-7,5, tamponada com fosfato (aproximadamente 15 mm), banho de água a 37°C ou incubadora*, temporizador*, centrífuga*, um auxílio ótico tal como uma lupa,

um espelho côncavo ou um microscópio, globulina anti-humana contendo anti-IgG e glóbulos vermelhos com sensibilidade a IgG.

Materiais Adicionais Necessários para o Método de Teste de Grupo Sanguíneo Automatizado: Galileo Neo* (conforme aplicável).

Para outros materiais necessários para o teste de grupo sanguíneo automatizado, consultar as informações fornecidas no manual de operação do equipamento.

* É da responsabilidade do operador a validação do dispositivo que escolher usar. A validação dos resultados deverá ser mantida como parte dos registos do laboratório, para revisão pelas entidades competentes de certificação.

MÉTODO DE TESTE DE GRUPO SANGUÍNEO AUTOMATIZADO: Para a execução de testes em microplaca com equipamento automatizado, consultar as instruções fornecidas no manual de operação do equipamento.

MÉTODO DE TESTE MANUAL: Existe uma grande variação entre laboratórios no que diz respeito ao método exato em que os testes de deteção de anticorpos são executados. Os métodos usados refletem normalmente preferências individuais relacionadas com a razão de soro para células, o tempo de incubação e o nível de prioridade atribuído às diferentes fases do teste. O procedimento de teste com bromelina de uma fase descrito abaixo é o mais comumente utilizado. Pode ser modificado conforme desejável, sujeito a uma documentação adequada dos testes, para provar a eficácia do método substituto.

1. Colocar duas gotas do soro ou plasma a ser testado num tubo de teste devidamente rotulado.
2. Adicionar 1 gota de suspensão de aproximadamente 3-4% dos glóbulos vermelhos apropriados em solução salina. Os glóbulos vermelhos de doadores podem ser lavados uma vez em solução salina antes de serem utilizados. Os glóbulos vermelhos reagentes comerciais podem ser utilizados diretamente do frasco ou em conformidade com as instruções do fabricante.
3. Adicionar uma gota de GammaZyme-B e misturar bem.
4. Se desejar, a mistura de teste pode ser centrifugada e examinada para hemólise e/ou aglutinação conforme descrito nos passos 6 a 8, contudo, isto de pouco servirá uma vez que a enzima não teve tempo suficiente para atuar nos glóbulos vermelhos.
5. Incubar durante 10 a 15 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A incubação até ao limite máximo de tempo pode melhorar o tratamento enzimático.
6. Centrifugar durante:
 - (a) 1 minuto a 1000 rpm (100 a 125 fcr) ou
 - (b) 15 segundos a 3400 rpm (900 a 1000 fcr) ou
 - (c) um tempo adequado à calibração da centrífuga.
7. Examinar a presença de hemólise e registar se esta estiver presente. *NOTA: Assumindo a ausência de contaminação bacteriana ou química, a hemólise pode indicar uma reação antígeno-anticorpo.* Na maioria das vezes, os anticorpos com capacidade de produzir hemólise têm especificidade nos sistemas de grupo sanguíneo ABO, P, Lewis, Kidd e Vel. A capacidade dos anticorpos para causar hemólise é aumentada pelo tratamento enzimático.
8. Voltar a suspender os glóbulos vermelhos agitando gentilmente, examinar macroscopicamente para aglutinação e registar os resultados do teste.
9. Se desejado, agora é possível realizar um teste de antiglobulina na mistura de teste, conforme descrito nos passos 10 a 14 abaixo.
10. Lavar os glóbulos vermelhos com os tubos cheios de soro fisiológico, pelo menos três vezes, tendo o cuidado de decantar o soro fisiológico entre cada lavagem e voltar a suspender completamente os glóbulos após a adição de soro fisiológico para a lavagem seguinte. Decantar completamente, após a última lavagem.
11. Adicionar 1 ou 2 gotas de Globulina Anti-humana Gamma-clone® a cada "botão seco" de glóbulos vermelhos ou seguir as instruções do fabricante da Globulina Anti-humana. Foi reportado, que alguns reagentes de antiglobulina podem demonstrar que não são específicos, quando usados com glóbulos vermelhos tratados com enzima[3]; no entanto, os reagentes comerciais de Antiglobulina Humana atualmente disponíveis foram provavelmente testados com glóbulos tratados com enzima, antes da sua colocação no mercado, tendo confirmado a sua especificidade.
12. Centrifugar novamente todos os tubos, conforme indicado no passo 6.
13. Voltar a suspender os glóbulos vermelhos agitando suavemente e examinar aglutinação. As reações negativas podem ser examinadas com um auxiliar ótico. Registrar os resultados.
14. Confirmar todos os testes negativos adicionando glóbulos vermelhos sensibilizados com IgG, tal como Checkcell® repetindo depois centrifugação e leitura. Um resultado de teste positivo nesta altura indica que antiglobulina ativa (anti-IgG) foi adicionada ao sistema de teste e que estava presente quando o teste original de antiglobulina foi interpretado como negativo.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa ▲ = eliminação de texto

Estabilidade da Reação: A fase de lavagem do teste de antiglobulina deve ser executada sem interrupções e os resultados do teste devem ser interpretados imediatamente após a sua conclusão.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Método de Teste de Grupo Sanguíneo Automatizado: Para a execução de testes em microplaca com equipamento automatizado, consultar as informações fornecidas no manual de operação do equipamento.

Método de Teste Manual: São essenciais controlos apropriados na execução de todos os procedimentos de laboratório. Mais especificamente, em testes de soros através de um procedimento de teste enzimático, é recomendado utilizar um controle autólogo utilizando os próprios glóbulos vermelhos do paciente como auxílio no reconhecimento de autoanticorpos, a maioria dos quais são aumentados na sua reatividade quando é aplicado um procedimento de teste enzimático.

Com vista ao controle de qualidade de rotina, sugere-se a utilização de um anticorpo fraco (ou diluído) para testar a eficácia do procedimento de teste com bromelina de uma fase em cada dia de utilização. Deve ser escolhido um anticorpo que tenha demonstrado reatividade aumentada num sistema de teste com enzimas. O anticorpo de controle selecionado não deve ser um reagente de grupo sanguíneo comercial diluído em albumina bovina, uma vez que tem de ser representativo dos inibidores de enzimas presentes no soro humano fresco que podem diminuir a eficácia do teste.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE: A aglutinação e/ou a hemólise dos glóbulos vermelhos de teste indicam a presença de uma reação antígeno-anticorpo. A não existência de aglutinação e hemólise indicam a ausência de um anticorpo anti-eritrocitário reativo por um procedimento de teste enzimático e dirigido a um antígeno presente nos glóbulos vermelhos de teste. Se os glóbulos vermelhos tratados com bromelina não apresentarem reatividade, quando testados com um soro que apresentou reatividade com os mesmos glóbulos vermelhos não tratados, a explicação pode ser, que o soro contém um anticorpo dirigido a um antígeno que está destruído ou inativo, por tratamento com protease.

Para o método de teste de grupo sanguíneo automatizado, o instrumento interpreta automaticamente os resultados do poço da microplaca. Consultar o manual de operação do equipamento para obter informações específicas sobre a interpretação dos resultados do teste automático.

LIMITAÇÕES: Como em todos os testes sorológicos, fatores como materiais contaminados, tempo ou temperatura de incubação inadequados, centrifugação imprópria ou má interpretação das aglutinações, e desvios dos procedimentos de teste recomendados, podem dar origem a resultados falsos. As técnicas enzimáticas podem ser especialmente propícias ao aparecimento de reações duvidosas. O aumento da sensibilidade não está limitado a anticorpos clinicamente significativos, estendendo-se também aos auto-anticorpos frios e quentes, que podem ser demasiado fracos para a deteção com métodos convencionais. O aparecimento de reatividade contra os glóbulos vermelhos do controle autólogo, também tratados com bromelina, pode ser uma ajuda útil no reconhecimento de auto-anticorpos. Adicionalmente:

1. O elevado potencial dos glóbulos vermelhos antígeno-positivo para serem hemolisados por alguns anticorpos, se tratados enzimaticamente, deve ser levado em consideração, quando se interpretam os resultados dos testes, uma vez que a falha no reconhecimento da hemólise como indicação de um teste positivo, pode resultar na não deteção de anticorpos significativos.
2. Não deve ser usado um procedimento de teste enzimático como o único método para a deteção de anticorpos anti-eritrocitários irregulares, uma vez que alguns antígenos são destruídos ou ficam inativos por tratamento enzimático. Ao mesmo tempo, uma vez que a destruição ou a inativação destes antígenos pode ser apenas parcial, alguns exemplos dos anticorpos correspondentes podem continuar a apresentar reatividade com os glóbulos tratados com enzima, embora a um grau inferior, ao que pode ser observado com os mesmos glóbulos não tratados. Alguns exemplos de anti-S podem ser reativos com os glóbulos S-s+ (mas não com glóbulos S-s-) após o tratamento enzimático.
3. O armazenamento impróprio deste produto pode levar à perda de reatividade antes do fim do prazo de validade.
4. É possível observar alguma descoloração dos glóbulos vermelhos quando o produto é utilizado pelo procedimento de teste descrito. Isto não prejudica a sensibilidade do teste e pode ser ignorado.
5. Para obter limitações específicas associadas ao método de teste de grupo sanguíneo automático, consulte as informações fornecidas no manual de operação do equipamento.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO: Todos os lotes de GammaZyme-B™ Solução Estabilizada de Bromelina são cuidadosamente

preparados e padronizados para produzir um aumento na reatividade com os anticorpos Rh selecionados, quando utilizados com o procedimento de teste recomendado 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. Pollack W, Hager HJ, Reckel R, Toren DA, Singher DA. A study of the forces involved in the second stage of hemagglutination. *Transfusion* 1965; 5:158-163.
2. Stratton F, Rawlinson VI, Gunson HH, Phillip PK. The role of zeta potential in Rh agglutination. *Vox Sang* 1973; 24:273-279.
3. Beck ML, Hicklin B, Pierce SR. Unexpected limitations in the use of commercial antiglobulin reagents. *Transfusion* 1976; 71-75.

Código do folheto informativo: 3028-6

Revisto: 6/2019



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: 10154450203

SAC 0800-707-3855

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa ▲ = eliminação de texto