

Gamma ELU-KIT® II

Para a Rápida Eluição Ácida de Anticorpos a partir de Glóbulos Vermelhos Intactos.

IVD



15°C 30°C



Não utilizar se estiver turva

Nocivo, Solução Conservante: 0.1% Azida de sódio



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

Solução de Eluição Solução de Lavagem e Solução Tampão

3021pt-3

Immucor Medizinische Diagnostik GmbH
Adam-Opel-Strasse 26 A
63322 Rödermark, GERMANY

EC REP

For Rapid Acid Elution of Antibodies from Intact Red Blood Cells

Para a Rápida Eluição Ácida de Anticorpos a partir de Glóbulos Vermelhos Intactos

UTILIZAÇÃO: O Gamma ELU-KIT II está indicado para uma rápida eluição ácida de anticorpos de glóbulos vermelhos intactos.

SUMÁRIO DO TESTE: A eluição é um processo de recuperação de anticorpos ligados a glóbulos vermelhos. O eluado, preparado com base em glóbulos vermelhos revestidos *in vivo* ou *in vitro*, pode ser utilizado em qualquer um dos seguintes casos:

1. Identificar anticorpos que revestem glóbulos vermelhos em doentes com teste de antiglobulina direto positivo.
2. Isolar anticorpos específicos a partir de soros contendo múltiplas especificidades, por absorção *in vitro* em glóbulos vermelhos selecionados.
3. Determinar a presença de antígenos de fraca expressão em glóbulos vermelhos após incubação prévia com anti-soro selecionado.
4. Preparar anti-soros específicos, livres de anticorpos indesejados. A presença de proteínas específicas pode ser testada no eluado por variadas técnicas bioquímicas ou imunológicas.

Os anticorpos podem ser eluídos dos glóbulos vermelhos intactos ou do estroma residual, após a lise das células. A eluição de anticorpos a partir dos glóbulos vermelhos foi conseguida, através de aquecimento [1], por tratamento das células sensibilizadas com solventes orgânicos [2,3] ou pela exposição a pH elevado ou baixo [4,5,6,7].

PRINCÍPIO DO TESTE: Os glóbulos vermelhos revestidos com anticorpos são inicialmente lavados minuciosamente, de forma a remover qualquer vestígio de proteínas não ligadas, utilizando para tal uma solução especial de lavagem, que permite manter a ligação dos anticorpos. Após a sua lavagem, os glóbulos vermelhos são suspensos numa solução de glicina de pH baixo, a fim de dissociar os anticorpos. Após a centrifugação, o sobrenadante contendo os anticorpos dissociados é separado dos glóbulos vermelhos e neutralizado, pela adição de uma solução tampão. O eluado está então preparado para ser testado na deteção e/ou identificação de anticorpos.

REAGENTE: O Gamma ELU-KIT II é constituído por três soluções com volumes suficientes para aproximadamente dez eluados, usando o procedimento detalhado neste folheto informativo.

- **Solução de Lavagem Concentrada (Concentrated Wash Solution):** Solução concentrada e tamponada, que deverá ser diluída em água destilada na proporção de 1 para 10, a fim de preparar a Solução de Lavagem de Trabalho. Contém 0,1% de azida sódica como conservante. A Solução de Lavagem de Trabalho proporciona um tampão isotónico com a força iónica correcta, para a lavagem de dos glóbulos vermelhos livres de anticorpos não ligados.
- **Solução de Eluição (Eluting Solution):** solução tampão de glicina de pH baixo, que dissocia anticorpos ligados a glóbulos vermelhos previamente lavados. Esta solução não contém conservantes.
- **Solução Tampão (Buffering Solution):** Solução Tris (hidroximetil)-aminometano, contendo albumina bovina e azida sódica numa concentração de

Legenda:

Sublinhado = Adição ou alteração significativa; ▲ = Eliminação de texto

Gamma ELU-KIT® II

For Rapid Acid Elution of Antibodies from Intact Red Blood Cells

IMMUCOR



ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO PRODUTO.

Para obter as instruções de uso em formato impresso, sem custo adicional, contactar o serviço de atendimento ao consumidor através do SAC 0800-707-3855 ou através do email fresenius.br@fresenius-kabi.com.

0,1%. É utilizada para neutralizar a acidez da Solução de Eluição, após a dissociação dos anticorpos. Toda a albumina bovina utilizada no fabrico deste produto tem origem em animais dadores dos EUA, que foram inspeccionados e certificados por inspetores dos Serviços Veterinários dos EUA (USDA Food Safety and Inspection Service) como sendo saudáveis. Este produto de origem ruminante é considerado como tendo um baixo risco de transmissão de Encefalopatia Espongiforme Transmissível. Contém 0,1% de azida sódica como conservante. Contém também um indicador azul para auxiliar a ajustar o eluato de acordo com o índice correto de pH para fazer o teste.

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

PRECAUÇÕES:

Para a Solução de Lavagem Concentrada Gamma ELU-KIT II e Solução Tampão Gamma ELU-KIT II:



Este reagente contém 0,1% de Azida de sódio. Aviso: H302 Nocivo por ingestão.

Para a Solução Tampão Gamma ELU-KIT II:



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

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Armazenar à temperatura ambiente (15°-30°C), entre utilizações. A Solução de Lavagem de Trabalho deve ser armazenada a 1°-10°C, entre utilizações. Devem ser tomadas precauções no sentido de minimizar a contaminação durante a utilização do produto.

Rejeitar se visivelmente turvo.

Não congelar. Não utilizar para além do prazo de validade. Não utilizar a Solução Tampão se não apresentar uma coloração azul, antes de tamponar o eluado.

Aviso: A azida sódica pode reagir com ligas de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Se for despejada num lavatório, deitar de seguida uma grande quantidade de água para evitar que a azida se acumule.

Manusear e inutilizar o reagente como potencialmente infeccioso.

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

COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA: Antes da colheita da amostra não é necessária qualquer preparação especial do doente. O sangue deverá ser colhido usando uma técnica asséptica e ser testado de preferência, enquanto se encontra ainda fresco. Caso não seja testado imediatamente, deverá ser armazenado a 1°-10°C, preferencialmente não mais de 72 horas. *NOTA: O uso de amostras de sangue colhido com mais de 72 horas pode provocar o aparecimento de manchas de hemoglobina no eluado, acompanhado por dificuldades no ajuste do pH final do eluado a ser testado.*

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 de eluição. É recomendado o uso de EDTA como anticoagulante. Também são aceitáveis amostras desfibrinadas.

PROCEDIMENTO:

Materiais Fornecidos: Gamma ELU-KIT II

Outros Materiais Necessários: Tubos (12x75 mm para a eluição, 10x75 mm ou 12x75 mm para o teste do eluado), pipetas, água destilada, estufa ou banho de água a 37°, soro fisiológico isotônico não tamponado, ou tamponado com fosfato (aproximadamente 15 mM), pH 6.5-7.5., cronómetro e centrífuga. Antiglobulina humana contendo anti-IgG, glóbulos sensibilizados com IgG e equipamento de ajuda óptica, como lupa ou espelho côncavo para o teste do eluado. A utilização do Gamma PeG™ é opcional.

MÉTODOS DE TESTE:

Preparação de Eluados

Aplica-se a glóbulos vermelhos revestidos com anticorpos *in vivo*, ou glóbulos vermelhos seleccionados, que tenham sido revestidos *in vitro* por incubação prévia em anti-soro.

NOTA: A finalidade recomendada da Solução de Lavagem de Trabalho é minimizar a quantidade de anticorpos, que se dissociam dos glóbulos vermelhos durante a fase de lavagem. No entanto, existem registos de que o uso desta solução de baixa força iónica, pode causar uma ligação inespecífica de anticorpos a glóbulos antigénio-negativos, durante a fase de lavagem, principalmente quando os anticorpos são particularmente potentes [8]. Como opção, pode ser usado soro fisiológico na lavagem dos glóbulos vermelhos, antes da preparação do eluado. Desta forma, será evitada a ligação de anticorpos a glóbulos antigénio-negativos, mas poderá resultar na dissociação de anticorpos com baixa afinidade durante o procedimento de lavagem, conduzindo assim, a um eluado sem actividade ou com menos anticorpos do que os expectáveis. Se decidir não utilizar a Solução de Lavagem de Trabalho, não é necessário executar o passo 1 do seguinte procedimento:

1. Preparar a Solução de Lavagem de Trabalho adicionando um volume de Solução de Lavagem Concentrada a nove volumes de água destilada. Misturar completamente antes de usar. *NOTA: A diluição da Solução de Trabalho Concentrada reduz a concentração da azida sódica para um nível, em que o seu efeito conservativo não é eficiente. Se for conservada a 1-10°C, a Solução de Lavagem de Trabalho pode ser usada enquanto não se apresentar turva e não causar hemólise dos glóbulos vermelhos.*
2. Centrifugar a amostra e remover todo o soro ou plasma possível.
3. Lavar uma alíquota de glóbulos vermelhos revestidos uma vez com solução salina. O volume de alíquota deve ser suficiente para produzir 1 mL (aproximadamente 20 gotas grandes) de células compactadas, quando a lavagem estiver completa.
4. De forma a remover todos os anticorpos não ligados, lavar os glóbulos com a Solução de Lavagem de Trabalho, repetindo a operação quatro vezes. Em alternativa, este processo pode ser substituído por quatro lavagens com soro fisiológico, em caso de suspeita de ligação inespecífica de anticorpos a glóbulos vermelhos antigénio-negativos. Se forem seguidas estas instruções, a lavagem adequada até 1mL de glóbulos vermelhos compactados, pode ser levada a cabo num tubo de teste de 12x75 mm. Reserve uma pequena alíquota de sobrenadante da lavagem final para servir de controlo.
5. Colocar 1 mL (20 gotas grandes) de glóbulos vermelhos lavados num tubo limpo de 12x75 mm, adicionar 20 gotas (aproximadamente 1 mL) de Solução de Eluição e misturar SUAVEMENTE, invertendo o tubo quatro vezes. O eluado poderá ser preparado a partir de um volume inferior a 1mL de células compactadas, se a quantidade da amostra for insuficiente. No entanto, tal resultará, num volume inferior de eluado para teste. Neste caso, o volume de Solução de Eluição a adicionar não será 20 gotas, mas antes um volume IGUAL ao de glóbulos compactados no tubo.
6. Centrifugar imediatamente entre 45 e 60 segundos a 3.400 rpm (900 a 1.000 g's). A imersão prolongada das células na Solução de Eluição provoca hemólise. A consequente libertação da hemoglobina para o eluado altera o pH e pode afetar o volume da Solução Tampão necessário, para ajustar o pH do eluado a neutro.
7. Transferir o eluado sobrenadante (eluado) para um tubo limpo. Os glóbulos vermelhos depositados devem ser rejeitados, uma vez que já não são apropriados para qualquer procedimento de tipagem antigénica.

8. Adicionar ao eluado ácido uma quantidade de Solução Tampão suficiente para restabelecer o seu pH, fixando-o no intervalo referido para o teste (6.4 a 7.6). A presença de um indicador azul auxilia ao ajuste adequado do pH. Não utilizar a Solução Tampão se não apresentar uma coloração azul, antes de tamponar o eluado. Esta coloração pode ser observada, durante a aspiração da Solução Tampão com uma pipeta. Quando adicionada a um eluado preparado recentemente, a Solução Tampão muda para uma coloração amarela, ao entrar em contacto com a solução ácida. Contudo, à medida que o volume da Solução Tampão se aproxima da quantidade original do eluado, a sua cor altera-se para azul claro. Esta situação pode manter-se após agitação, caso o pH do eluado tiver sido ajustado dentro do intervalo desejado. A quantidade de Solução Tampão necessária para esta operação varia com os diferentes eluados, dependendo de um conjunto de factores, entre os quais se destaca a extensão da hemólise, durante a eluição. Para além do prolongamento excessivo do processo de eluição, já mencionado, o grau de hemólise pode ser influenciado pela idade e fragilidade osmótica dos glóbulos vermelhos a partir dos quais foi elaborado o eluado. Ressalva-se, que as quantidades podem não ser exactas, quando as soluções são dispensadas por um processo de contágotas. A presença de um indicador na Solução Tampão facilita o ajuste do pH do eluado, tornando-o adequado para teste. Se a cor amarela do eluado não se alterar após a adição de 20 gotas (aproximadamente 1mL) de Solução Tampão, continue a adicionar esta solução, à razão de uma gota de cada vez, até que a cor azul clara se mantenha após agitação.
9. Misturar bem e centrifugar para remover qualquer precipitado ou resíduo celular. Depois transferir o eluado para um tubo de teste limpo e devidamente rotulado.

O eluado está agora pronto para o teste de deteção ou identificação de anticorpos. Caso o teste não seja efectuado imediatamente, o eluado deverá ser armazenado a uma temperatura de 1°-10°C, e pode ser utilizado até sete dias após a sua preparação, desde que não apresente turvação. A turvação pode indicar contaminação bacteriológica, o que pode conduzir a falsos resultados. Não é excluída a hipótese de armazenar por um período de tempo maior, caso o eluado for esterilizado por uma membrana de filtração, e armazenado seguidamente 1°-10°C, e se os testes posteriores forem controlados com glóbulos vermelhos estabelecidos como tendo reações positivas e negativas com eluados fracos. O indicador azul poderá perder a cor durante o período de armazenamento.

Testar os Eluados

Os eluados podem ser testados por métodos convencionais de deteção de anticorpos, através de procedimentos que o técnico possa validar, produzindo dados que demonstrem a validade dos resultados, ou pelos procedimentos seguintes, aplicando a técnica modificada de antiglobulina indirecta. Dado que o eluado já se encontra num substrato iónico baixo, a utilização de potenciadores como a albumina bovina ou aditivos de baixa força iónica não é habitualmente necessária. No caso de uso do reagente aditivo de polietilenoglicol (por exemplo, Gamma PeG™) não é necessário o teste modificado de antiglobulina. Neste caso, os glóbulos deverão ser lavados pelo menos 3 vezes com soro fisiológico, após incubação com o eluado, uma vez que é necessário eliminar o aditivo antes da adição de Antiglobulina Humana.

NOTA: O teste de antiglobulina humana modificado não contempla lavagens repetidas de glóbulos vermelhos testados, após incubação com o eluado, mas depende de uma remoção adequada de proteínas humanas dos glóbulos em suspensão, após incubação. Os reagentes comerciais de glóbulos vermelhos são lavados suficientemente durante o seu fabrico, a fim de poderem ser usados directamente do frasco, mas as amostras de glóbulos vermelhos de doentes ou dadores devem ser bem lavadas, pelo menos duas vezes, em soro fisiológico, colocando uma ou duas gotas de sangue num tubo de 75x12 mm, tendo o cuidado de decantar completamente entre lavagens e ressuspender as células, após a adição de soro na lavagem seguinte. Após a segunda lavagem, o soro fisiológico deverá ser decantado completamente e deverá ser adicionado soro suficiente, para fazer uma suspensão de glóbulos a 3-4%.

1. Colocar 1 gota da suspensão de glóbulos vermelhos num tubo devidamente rotulado. Adicionar uma pequena quantidade de soro fisiológico (5-10 gotas). Centrifugar durante 30 segundos a 3,400 rpm (900 a 1,000 g's), decantar o soro e tapar os tubos secos.
2. Adicionar 2 gotas de eluado ao botão de glóbulos em cada tubo.
3. Misturar bem o conteúdo de todos os tubos e incubar durante 10 minutos a 37°±1°C. A incubação poderá ser prolongada até 30 minutos. A incubação até ao limite máximo de tempo pode aumentar a reatividade.

Legenda:

Sublinhado = Adição ou alteração significativa; ▲ = Eliminação de texto

4. Após a incubação, adicionar 5-10 gotas de Solução de Lavagem de Trabalho no tubo e misturar. Adicionar 10 gotas de Solução de Lavagem de Trabalho pode aumentar a eficiência do processo de lavagem.
5. Centrifugar durante 30 segundos a 3.400rpm (rcf 900 a 1.000).
6. Decantar completamente a Solução de Lavagem de Trabalho e tapar os tubos secos.
7. Adicionar 1 ou 2 gotas de Antiglobulina Humana Gamma-clone® a cada botão de glóbulos, ou seguir as instruções do fabricante da Antiglobulina Humana em uso. A adição de 2 gotas de AGH pode aumentar a reatividade.
8. Misturar bem e centrifugar os tubos durante:
 - (a) 1 minuto a 1.000 rpm (100 a 125 g's) ou
 - (b) 15 segundos a 3400 rpm (900 a 1.000 g's) ou
 - (c) um tempo adequado à calibração da centrifuga.
9. Ressuspender os glóbulos, agitando suavemente e examinar a presença ou ausência de aglutinação. As reações negativas podem ser examinadas com ajuda ótica. Registrar os resultados.

Estabilidade da Reação: O procedimento de lavagem do teste de antiglobulina deve ser levado a cabo sem qualquer interrupção. Os resultados deverão ser interpretados imediatamente, após a conclusão do teste.

CONTROLO DE QUALIDADE:

1. Todos os testes de antiglobulina negativos devem ser confirmados, adicionando glóbulos vermelhos sensibilizados com IgG, tais como Checkcell®, repetindo depois a centrifugação e a leitura. Um resultado de teste positivo nesta altura indica que foi adicionada antiglobulina (anti-IgG) ativa ao sistema de teste e estava presente, quando o teste original de antiglobulina foi interpretado como negativo.
2. Uma amostra retirada após a lavagem final deverá ser testada em paralelo com o eluado, para identificação de actividade de anticorpos. O objetivo deste controlo é assegurar que os anticorpos presentes no eluado derivam de uma ligação com os glóbulos vermelhos originais e que não são apenas anticorpos não ligados, que permaneceram como resultado de lavagem inadequada. Se houver atividade de anticorpos na última lavagem, o procedimento de eluição deve ser repetido após a lavagem minuciosa dos glóbulos. Deve considerar-se, a possibilidade da presença de atividade dos anticorpos na Solução de Lavagem, derivar da dissociação dos anticorpos dos glóbulos vermelhos, durante a lavagem. Sempre que existir esta suspeita, a dissociação dos anticorpos pode ser minimizada com o uso da Solução de Lavagem de Trabalho a 1°-10°C, para lavar as células antes do procedimento de eluição.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE: Uma reação de aglutinação que ocorra durante o teste do eluado contra os glóbulos vermelhos de fenótipos apropriados, indica que um anticorpo foi recuperado das células originais, sujeito a testes de controlo satisfatórios. Na suspeita de um teste de antiglobulina directo positivo, relacionado com fármacos, o eluado deve ser testado contra os glóbulos vermelhos revestidos com o referido fármaco (por exemplo, penicilina), antes de se concluir que nenhum anticorpo foi eluído dos glóbulos. A ausência de aglutinação quando o eluado é testado contra os glóbulos vermelhos apropriados, indica que não foi recuperado nenhum anticorpo dos glóbulos.

LIMITAÇÕES: O rendimento dos anticorpos obtidos pela eluição de glóbulos vermelhos revestidos depende dos seguintes fatores variáveis:

1. A quantidade de anticorpos ligados às células. Quando a eluição é obtida a partir de glóbulos vermelhos previamente incubados com amostras de soro ou plasma *in vitro*, relaciona-se com a razão soro/células na mistura incubada, o modo da ligação constante do anticorpo particular, o número, tipo e acessibilidade das posições dos receptores antigénicos, mas também com o equilíbrio alcançado, ou não, da reação.
2. O grau de dissociação do anticorpo que ocorre durante os procedimentos de lavagem. Isto pode ser minimizado pela lavagem a 1°-10°C com a Solução de Lavagem de Trabalho. Na maioria dos casos, podem ser feitos eluados satisfatórios, após a lavagem das células com a Solução de Lavagem de Trabalho à temperatura ambiente.
3. O grau de recombinação dos anticorpos que ocorre antes de ser separado o eluado das células. Ocorre a um pH que não é favorável para a associação do anticorpo. Isto é minimizado com o procedimento de eluição ácida, uma vez que a separação do eluado das células ocorre a um pH que não é favorável à associação de anticorpos.

Legenda:

Sublinhado = Adição ou alteração significativa; ▲ = Eliminação de texto

4. O grau a que a imunoglobulina é desnaturada pelo baixo pH durante a dissociação. Isto é minimizado se o procedimento for efetuado como recomendado.

Outros factores a serem considerados são:

5. Glóbulos vermelhos que têm um teste de antiglobulina directo positivo, devido unicamente à presença do complemento, vão normalmente levar a um eluado em que a actividade do anticorpo não é visível.
6. Um restabelecimento incorrecto do pH no eluado, pode causar hemólise dos glóbulos vermelhos ou pode inibir a actividade do anticorpo, nos testes seguintes.
7. Amostras de células armazenadas por mais de 72 horas, poderão produzir eluados de menor potência do que os preparados a partir de amostras de sangue colhidas recentemente. Procedimentos de eluição alternativos são preferíveis para a preparação de eluados, a partir de amostras armazenadas.
8. Pode ocorrer um teste falso-negativo, se o procedimento do teste de antiglobulina modificado for usado e se a suspensão de glóbulos vermelhos de teste não for suficientemente lavada, de modo a eliminar as proteínas humanas livres, antes da incubação com o eluado, ou se o sistema de teste se tornar contaminado com proteínas humanas por qualquer motivo, que não necessariamente pelo anticorpo dissociado, durante a fase de eluição. Um teste de Controlo de Coombs negativo (Passo 1 do Controlo de Qualidade) deverá alertar os investigadores para esta fonte de erro.
9. A utilização de uma solução de lavagem de baixa força iónica, foi descrita como sendo uma possível causa da ligação não específica dum anticorpo muito potente, dirigido a glóbulos vermelhos antigénio-negativos, conduzindo a um eluado, que é efectivamente falsamente positivo.
10. O não desenvolvimento da cor azul clara ao adicionar a Solução Tampão no eluado recentemente preparado, pode indicar a degradação da solução e o eluado deve ser rejeitado. Neste caso, deve confirmar-se se a Solução Tampão está azul antes de ser usada e o eluado deve ser repetido.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO: As soluções que constituem o Gamma ELU-KIT II, são testadas e apresentam resultados satisfatórios quando utilizadas com o procedimento detalhado neste folheto informativo, na preparação de eluados de glóbulos vermelhos revestidos com uma elevada gama de anticorpos IgG. O desempenho deste produto depende da aplicação dos métodos recomendados neste folheto informativo.

BIBLIOGRAFIA:

1. Landsteiner K, Miller CP. Serological studies on the blood of primates. II. The blood groups of anthropoid apes. J Exp med 1925; 42:853-862.
2. Rubin H. Antibody elution from red cells. J Clin Path 1963; 16:70-73.
3. Chan-Shu SA, Blair O. A new method of antibody elution from red blood cells. Transfusion 1979; 19:182-185.
4. Kidd P. Elution of an incomplete type of antibody from the erythrocytes in acquired haemolytic anaemia. J Clin Path 1949; 2:103.
5. Rekvig DP, Hannestad K. Acid elution of blood group antibodies from erythrocytes. Vox Sang 1977; 33:280-285.
6. Melvin JR, Sanfillipo JS, Dobra KW, Cronholm LS, Maldonado. An improved method of acid elution and its application in obstetric and immunohematology. Am J Obstet Gynecol 1981; 141:25.
7. van Oss CJ, Beckers D, Engelfriet CP, Absolom DR, Neumann AW. Elution of blood group antibodies from red cells. Vox Sang 1981; 40:367-371.
8. Leger RM, Arndt PA, Ciesielski DJ, Garratty G. False-positive eluate reactivity due to the low-ionic wash solution used with commercial acid-elution kits. Transfusion 1998; 38:565-572.



Código do folheto informativo: IC3021pt-3

Revisto: 03/2015

Importado / Distribuído por:

Fresenius HemoCare Brasil Ltda.

Rua Roque González, n.º 128 - Jardim Branca Flor

Itapeverica da Serra - São Paulo - Brasil

CEP.: 06855-690

Farm. Res: Mary M. Yamauchi - CRF-SP 13.956

SAC: 0800-707-385