

# MACE<sup>®</sup>1

## (Modified Antigen Capture ELISA)

### UTILIZAÇÃO

MACE<sup>®</sup>1 é um imunoenensaio enzimático de fase sólida (ELISA) qualitativo concebido para detectar anticorpos IgG para antígenos HLA classe I e para epitopos nas glicoproteínas plaquetárias IIb/IIIa.

Para Diagnostico *In Vitro*.

### SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO

A existência de antígenos específicos de plaquetas em várias glicoproteínas plaquetárias tem sido descrita por muitos investigadores.<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup> Os anticorpos para antígenos específicos de plaquetas ou antígenos HLA classe I devidos a gravidez ou transfusão podem resultar na imuno-destruição das plaquetas transfundidas.<sup>7,8,9</sup> A confirmação da presença destes anticorpos em soros de doentes pode ser útil na procura de produtos sanguíneos potencialmente compatíveis.

Os micropoços MACE<sup>®</sup>1 apresentam anticorpos monoclonais imobilizados para captura de glicoproteínas HLA classe I ou glicoproteínas plaquetárias IIb/IIIa. Este ensaio está concebido para ser utilizado na detecção e diferenciação entre anticorpos HLA e específicos de plaquetas dirigidos contra um dador ou plaquetas de doentes.

### PRINCÍPIO

O soro ou plasma do doente é incubado com plaquetas intactas permitindo que os anticorpos, se presentes, se liguem às glicoproteínas plaquetárias. Os anticorpos não ligados são lavados das plaquetas. As plaquetas sensibilizadas com anticorpos são solubilizadas pela adição de um tampão de lise que contém um detergente não iónico. O lisado de plaquetas contendo glicoproteínas solúveis é transferido para os micropoços o que permite que as glicoproteínas plaquetárias e HLA classe I (sensibilizadas ou não com anticorpos do doente) sejam capturadas pelos anticorpos monoclonais imobilizados. As amostras controlo são manuseadas de forma idêntica. Após um breve período de incubação, as glicoproteínas não ligadas são lavadas. Adiciona-se aos poços um reagente globulina anti-humana, anti-IgG, conjugado a fosfatase alcalina e incuba-se. O material não ligado Anti-IgG é lavado e adiciona-se o substrato PNPP (p-nitrofenil fosfato). Após o período de incubação de 30 minutos, a reacção é parada com uma solução de hidróxido de sódio. A densidade óptica da cor que se desenvolve é medida num espectrofotómetro. Um resultado positivo indica a presença de anticorpos específicos da glicoproteína nas glicoproteínas GPIIb/IIIa ou HLA capturadas.

### REAGENTES

Número máximo de testes por kit: 45

Todos os reagentes devem ser armazenados como indicado nos respectivos rótulos.

- |            |  |
|------------|--|
| <b>MS</b>  | 1. Micropoços: tiras de micropoços de base achatada ao qual foram imobilizados anticorpos monoclonais de murino específicos para plaquetas e glicoproteínas HLA classe I<br>6-1x8 tiras <b>VERMELHAS</b> específicas para GPIIb/IIIa e<br>6-1x8 tiras <b>AZUIS</b> específicas para HLA classes I.<br>As tiras de micropoços estão fechadas num saco de alumínio resselável. Prontos a usar. |
| <b>TCW</b> | 2. Solução de Lavagem Concentrada (10x): Solução Tris (hydroxymethyl aminomethane) tamponada com cloreto de sódio e Tween 20. 1% de azida sódica. Diluir com água desionizada ou destilada antes de usar. Armazenar a Solução de Lavagem de Trabalho até 48 horas à temperatura ambiente ou até sete dias a 2 – 8°C.   |
| <b>TSD</b> | 3. Diluente de Amostra: Solução Tris salina tamponada contendo cloridio de sódio. Azida sódica 0.05%. Pronta a usar.   |
| <b>SB</b>  | 4. Tampão Substrato: Esta solução contém dietanolamina e cloreto de magnésio. Azida sódica 0.02%. Pronto a usar. Proteger da luz.  |
| <b>SS</b>  | 5. Solução de Paragem: Hidróxido de sódio 3 M. Pronta a usar. Utilizar com cuidado.  |
| <b>AG</b>  | 6. Conjugado: anticorpo de cabra purificado por afinidade conjugado a fosfatase alcalina para a imunoglobulina humana (IgG). Azida sódica 0.1%. Diluir em Diluente de Amostra antes de usar.   |

<b>PN</b>	7. Substrato PNPP (p-nitrophenil fosfato): Pó cristalino. Reconstituir com água desionizada ou destilada e diluir em Tampão Substrato antes de usar. Proteger da luz.
<b>PC</b>	8. Soro Controlo Positivo: Soro Humano. Azida sódica 0.1%. Prontos a usar.
<b>NC</b>	9. Soro Controlo Negativo: Soro Humano. Azida sódica 0.1%. Prontos a usar.
<b>CRP</b>	10. Solução de Resuspensão Celular e Conservante: Solução salina Fosfato tamponada contendo EDTA. Azida sódica 0.1%. Pronto a usar.
<b>CLB</b>	11. Tampão de Lise Celular (10x): Solução Tris salina tamponada contendo um detergente não iónico. 0.1% azida sódica. Diluir com água desionizada ou destilada antes de usar
<b>NCP</b>	12. Controlo Plaquetário Normal: Plaquetas humanas secas em vácuo. Re-hidratar antes de usar com Solução de Resuspensão Celular e Conservante.
<b>PS</b>	13. Seladores de placas.

### **PRECAUÇÕES**

- Não usar reagentes turvos ou contaminados.
- Tem de se ter cuidado para evitar a contaminação do Diluente de Amostra e Conjugado. A contaminação inadvertida destes reagentes com soro humano ou plasma resulta na neutralização do Conjugado e subsequentemente ausência de resultados válidos.
- Não utilizar os reagentes para além da sua data de validade.
- Os micropoços e reagentes contidos no kit não devem ser usados com qualquer outro tipo de teste.
- A substituição dos componetes por outros que não sejam fornecidos no kit pode conduzir a resultados inconsistentes ou errados.
- Deitar fora quaisquer porções não usadas de Conjugado diluído, Controlos Positivo e Negativo diluídos e PNPP reconstituído e diluído após cada ensaio.
- O Tampão de Lise Celular TEM de ser utilizado no dia da sua preparação e não pode ser armazenado para utilização futura.
- Ao fazer as diluições, seguir as instruções do produtor das pipetas para uma dispensação e técnica de lavagem apropriadas.
- A reacção do substrato enzimático que ocorre na incubação final é sensível à temperatura e deve ser efectuada numa área controlada a 22 – 25°C.
- Devido às variações nos instrumentos ou temperaturas ambiente consistentemente variáveis pode ser necessário ao laboratório estabelecer um tempo de incubação ligeiramente superior ou inferior para atingir resultados controlo consistentemente válidos. Porque a temperatura da incubação final pode afectar os valores controlo, é importante monitorizar periodicamente a incubação à temperatura ambiente.

### **ATENÇÃO**

- Todo o soro humano utilizado nos Controlos Positivo e Negativo foi testado e considerado negativo para anticorpos para VIH, VHC e HbsAg por métodos aprovados pela FDA. Contudo, nenhum método pode oferecer garantia completa da ausência de VIH, vírus da Hepatite C, vírus da Hepatite B ou outros agentes infecciosos. Assim, estes materiais devem ser manuseados como potencialmente infecciosos.
- Alguns dos reagentes fornecidos com este kit contêm azida sódica como conservante.  
**AVISO:** A azida sódica reage com chumbo e cobre formando azidas de metal altamente explosivas. Ao deitá-la numa pia esta deve ser imediatamente lavada com uma grande quantidade de água para evitar a produção de azida. A azida sódica é um veneno e é tóxica se ingerida.
- A Solução de Paragem (NaOH) é corrosiva. Evitar o contacto com os olhos e pele. Derrames devem ser imediatamente limpos.
- Deitar fora todos os componentes, quando usados, de acordo com os regulamentos locais.

### **COLHEITA DA AMOSTRA**

#### **Soro ou Plasma:**

O sangue deve ser colhido em ACD (plasma) ou sem anticoagulante (soro) usando técnicas assépticas e deve ser testado enquanto fresco para minimizar a probabilidade de obter reacções falso positivas ou falso negativas devido a armazenamento impróprio ou contaminação da amostra.

Soro ou plasma que não possam ser testadas imediatamente devem ser armazenadas a 2 – 8°C por um máximo de 48 horas ou congeladas. As amostras congeladas a –20°C ou menos mantêm-se em boas condições durante vários anos (2-3 anos). Contudo, para evitar qualquer deteriorização ou ciclos repetidos de congelamento/descongelamento recomenda-se que as amostras sejam aliqüotadas em pequenos volumes e então congeladas.

O soro ou plasma deve ser separado dos ertrócitos ao ser armazenado ou transportado.

Para este teste apenas é adequado soro de sangue total ou plasma. A diluição prévia das amostras em algo que não soro humano negativo ELISA normal pode afectar os resultados

Amostras contaminadas, hemolizadas, lipémicas ou inactivadas por calor podem dar resultados inconsistentes e devem ser evitadas.

### **Plaquetas:**

- As amostras de plaquetas devem ser colhidas em CPD ou ACD e testadas em 7 dias. Quando não testadas de imediato, as plaquetas devem ser armazenadas à temperatura ambiente (20 a 25 °C). As amostras de plaquetas obtidas a partir de concentrados de plaquetas devem ser utilizadas dentro da data estabelecida.
- Para cada amostra a ser testada são necessários 2 – 3 mL de plasma rico em plaquetas ( $\leq 400,000$  por  $\mu\text{L}$ ) ou 0.25 mL de concentrado de plaquetas ou 15  $\mu\text{L}$  de uma suspensão a 50% de plaquetas lavadas. O plasma rico em plaquetas pode ser preparado centrifugando o sangue total a 2,000x g durante 3 minutos.
- As plaquetas devem ser centrifugadas a um tempo e velocidade adequados para sedimentar as células. Não se recomenda, contudo, uma centrifugação excessiva. Os tempos de centrifugação sugeridos são 580 x g durante 20 minutos, 2,000 x g durante 10 minutos, ou 5,000 x g durante 6 minutos. Cada laboratório deve estabelecer os tempos e velocidades óptimos para o equipamento utilizado.

### **Armazenamento das Plaquetas:**

- Preparar um botão de plaquetas como descrito no passo 5 em baixo. Eliminar o sobrenadante e resuspender o botão de plaquetas em 0.25 mL de Solução de Resuspensão e Conservação Celular. Esta suspensão pode ser armazenada a 2 a 8°C até 7 dias.

## **PROCEDIMENTO**

### **Material Fornecido:**

Os frascos podem conter mais reagente do que o descrito nas etiquetas. Assegure-se da correcta medição dos reagentes através da utilização de um dispositivo apropriado, quando fizer as diluições.

1. 12 – 1 x 8 Micropoço Tiras com suporte
2. 1 x 50 mL Solução de Lavagem Concentrada
3. 1 x 14 mL Diluente de Amostra
4. 1 x 14 mL Tampão Substrato
5. 1 x 14 mL Solução de Paragem
6. 1 x 80  $\mu\text{L}$  Conjugado IgG Anti-Humano
7. 6 x 50 mg Substrato PNPP
8. 2 x 0.7 mL Soro Controlo Positivo
9. 2 x 0.7 mL Soro Controlo Negativo
10. 3 Controlo Plaquetário Normal (50  $\mu\text{L}$  rehidratado)
11. 1 x 2.5 mL Tampão de Lise Celular
12. 2 x 50 mL Solução de Resuspensão e Conservação Celular
13. 12 Seladores de Placa

### **Material Adicional Necessário:**

1. Tubos teste para as diluições das amostras, controlos e reagentes.
2. Pipetas para transferência
3. Micropipetas ajustáveis a volumes 10-100  $\mu\text{L}$  e 100 – 1,000  $\mu\text{L}$  e pontas descartáveis
4. Relógio
5. Leitor de microplaca com capacidade de leitura na gama de DO de 405 ou 410 e 490 nm.
6. Água desionizada ou destilad

7. Papel absorvente
8. Lavador ou dispositivo de lavagem de microplaca
9. Centrifuga com capacidade de separar soro ou plasma from platelets
10. Incubadora ou banho a 37°C
11. Tubos de microcentrifugação
12. Microcentrifuga para sedimentar as plaquetas

### **Procedimento do Teste**

1. Colocar todos os reagentes à temperatura ambiente
2. Preparar a Solução de Lavagem de trabalho diluindo a Solução de Lavagem Concentrada. Adicionar 1 volume de Solução de Lavagem Concentrada a 9 volumes de água desionizada ou destilada. Misturar bem.
3. Determinar o número de amostras a testar. Utilizar a Folha de Registo para estabelecer uma localização para cada amostra consistindo num poço em cada tira. Registrar a identificação de cada amostra na Folha de Registo.

### **PREPARAÇÃO DAS AMOSTRA E CONTROLOS**

4. Preparar os controlos positivo e negativo
  - a) Rehidratar um frasco de Controlo Plaquetário Normal seco adicionando 400 µL de Solução de Resuspensão e Conservação Celular
  - b) Deixar 10 a 30 minutos à temperatura ambiente.
  - c) Misturar bem as plaquetas rehidratadas
  - d) Centrifugar os tubos para sedimentar as células.
  - e) Decantar o sobrenadante e blot os tubos.
  - f) Adicionar 50 µL de Solução de Resuspensão e Conservação Celular ao botão de plaquetas
  - g) Misturar bem com o auxílio de uma pipeta para obter uma suspensão homogénea. Transferir 15 µL da suspensão de plaquetas em cada um de dois tubos de microcentrifugação limpos.
  - h) Adicionar 150 µL de Soro Controlo Positivo a um dos tubos. Identificar como controlo positivo. Adicionar 150 µL de Soro Controlo Negativo ao outro tubo. Identificar como controlo negativo. **MISTURAR BEM**.

### **Preparar as plaquetas teste**

5. Para cada amostra de plaquetas a ser testada, colocar 2 – 3 mL de plasma rico em plaquetas (a contagem de plaquetas não deve exceder 400,000 por µL) ou cerca de 0.25 mL de concentrado de plaquetas num tubo de microcentrifugação e centrifugar para obter um botão de plaquetas. Eliminar o plasma sobrenadante.
6. Adicionar 400 µL de Solução de Resuspensão e Conservação Celular ao botão de plaquetas e **MISTURAR BEM**. Centrifugar para obter um botão de plaquetas.
7. Inverter o tubo e eliminar o líquido sobrenadante. Repetir os passos 6 e 7 num total de 3 a 4 lavagens. A seguir à última lavagem, blot os tubos com papel absorvente. Deixar o sobrenadante escorrer.
8. Estimar o volume de cada botão de plaquetas. Fazer uma suspensão de 50% de cada plaqueta adicionando um volume igual de Solução de Resuspensão e Conservação Celular ao botão de plaquetas. Misturar bem para obter uma suspensão homogénea. Transferir 15 µL da suspensão de 50% de plaquetas para um tubo limpo e identificado.
9. Adicionar 150 µL de soro ou plasma do doente a cada um dos tubos contendo uma suspensão de plaquetas teste preparada no passo anterior. **MISTURAR BEM** com o auxílio de uma pipeta.
10. Incubar o controlo positivo e negativo e as amostras 30 – 35 minutos a 37°C. Se for utilizado uma incubadora a seco aumentar o tempo em 10 minutos.
11. Lavar todas as amostras e controlos duas vezes adicionando 400 µL de Solução de Resuspensão e Conservação Celular a cada tubo e centrifugando para sedimentar as plaquetas. Blot os tubos com papel absorvente para remover todo o líquido residual tendo atenção para não danificar o botão de plaquetas na última lavagem.
12. Diluir o Tampão de Lise Celular. Adicionar 100 µL de Tampão de Lise Celular a 900 µL de água desionizada ou destilada. Preparar 1.0 mL de tampão diluído para cada cinco plaquetas a serem lisados. **MISTURAR BEM**.

13. Para lisar as plaquetas, adicionar 180 µL de Tampão de Lise Celular (preparado no passo anterior) a cada tubo teste e controlo. MISTURAR BEM com o auxílio de uma pipeta ou vortex para obter uma lise completa. Prosseguir imediatamente com o ensaio. Os lisados de plaquetas devem ser testados o mais cedo possível.

#### EXECUÇÃO DO ENSAIO

14. Remover os micropoços suporte do saco. Reselar as tiras que não forem necessárias no saco de protecção.

NOTA: O kit apenas fornece um suporte. Não deitar fora até todas as tiras terem sido utilizadas.

NOTA: Oriente o suporte com o A1 no canto superior esquerdo. Assegure-se que todas as tiras estão correctamente encaixadas no seu suporte. Marque ou numere cada tira para evitar erros.

15. Adicionar 50 µL de lisado de plaquetas sensibilizadas, lisado do controlo positivo e controlo negativo aos poços referenciados na Folha de Registo.

NOTA: Apenas se deve adicionar Controlo Positivo à tira HLA, como designado na Folha de Registo.

NOTA: Não adicionar amostras ou reagentes aos poços branco.

NOTA: IDENTIFICAR CADA TIRA PARA EVITAR ERROS.

16. Selar os micropoços com o selador de placa e incubar 30-35 minutos num banho a 37°C. Se for utilizada uma câmara incubadora aumentar o tempo em 10 minutos.

17. Diluir o Conjugado 1:100 em Diluente de Amostra. Utilizar um recipiente de polipropileno.

Tiras:	2 – 1 x 8	12 – 1 x 8
IgG	10 µL	60 µL
TSD	1.0 mL	6.0 mL

NOTA: O conjugado é viscoso. Colocar a ponta 2-3 vezes no Conjugado antes de dispensar e enxaguar após a adição ao Diluente de Amostra. Misturar bem.

#### 18. LAVAGEM:

- Aspirar ou decantar o conteúdo de cada poço e blot em papel absorvente.
- Adicionar 300 µL de Solução de Lavagem de trabalho.
- Aspirar or decantar.
- Repetir os passos b + c para um total de 3 ou 4 lavagens.
- Decantar vigorosamente para remover qualquer Solução de Lavagem residual. Inverter em papel absorvente para evitar a secagem.

NOTA: É importante remover completamente toda a Solução de Lavagem após a última lavagem.

19. Adicionar 50 µL de Conjugado diluído (feito num passo anterior) a todos os poços EXCEPTO aos designados como BRANCO.

20. Selar os micropoços com o selador de placa e incubar 30-35 minutos num banho a 37°C. Se for utilizada uma câmara incubadora aumentar o tempo em 10 minutos.

21. Dissolver o Substrato PNPP adicionando ao frasco 0.5 mL de água desionizada ou destilada. Fechar o frasco e misturar bem. Proteger da luz até ser utilizado.

22. Diluir o PNPP 1:100 em Tampão Substrato.

Tiras:	2 – 1 x 8	12 – 1 x 8
PN	20 µL	120 µL
SB	2.0 mL	12.0 mL

Misturar bem. Proteger da luz até ser utilizado.

## 23. LAVAGEM

- a) Aspirar ou decantar o conteúdo de cada poço e blot em papel absorvente.
- b) Adicionar 300 µL de Solução de Lavagem de trabalho.
- c) Aspirar or decantar.
- d) Repetir os passos b + c para um total de 3 ou 4 lavagens.
- e) Decantar vigorosamente para remover qualquer Solução de Lavagem residual Inverter em papel absorvente para evitar a secagem.

Prosseguir rapidamente com os próximos três passos.

24. Adicionar 100 µL da solução PNPP diluída a todos os poços EXCEPTO aos designados como BRANCO.

25. Manter os micropoços no escuro durante 30 minutos à TEMPERATURA AMBIENTE (22 – 25°C).

NOTA: O tempo de incubação e a temperatura após a adição do PNPP é crítico. NÃO alterar o tempo de incubação estabelecido ou a temperatura. Para a consistência dos resultados, começar a contar o tempo logo após a adição do reagente ao primeiro poço.

26. Parar a reacção adicionando 100 µL de Solução de Paragem a cada poço na mesma sequência que foi adicionado o substrato. Adicionar 200 µL de Solução de Paragem aos poços branco.

27. Ler a absorvância (DO) de cada poço a 405 ou 410 nm usando um filtro de referência de 490 nm. Se os resultados não puderem ser lidos imediatamente, colocar os poços no escuro até 30 minutos.

28. Subtrair os valores obtidos nos poços branco a todos os outros poços, amostras e controlos. Muitos leitores ELISA estão programados para efectuar este passo automaticamente.

29. Registrar os resultados na Folha de Registo.

## **CONTROLO DE QUALIDADE**

O controlo de qualidade MACE<sup>®</sup>1 é efectuado no sistema pela inclusão dos Soros Controlo Positivo e Negativo. Estes controlos devem ser incluídos em cada teste ensaio para ajudar a determinar se ocorreram erros técnicos ou falha de reagentes.

Critérios para um teste válido:

	Controlo Negativo	Controlo Positivo
DO média	≤ 0.150 (linha HLA)	≥ 1.800 (linha HLA)

## **INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**

Resultados com valores de DO iguais ou superiores a 2X o valor obtido para o controlo negativo de plaquetas da glicoproteína correspondente são considerados como resultados positivos

## **LIMITAÇÕES**

Resultados errados podem ser consequência de contaminação bacteriana dos materiais do teste, períodos de incubação não adequados, lavagem ou decantação dos poços não adequadas, exposição do substrato à luz, omissão de reagente, exposição a temperaturas superiores ou inferiores às requeridas, plaquetas insuficientes ou em excesso, grupos ABO incompatíveis, ou omissão de passos.

Os resultados deste ensaio não devem ser utilizados como única base para uma decisão clínica.

Alguns anticorpos de baixo título e de baixa avidéz podem não ser detectados com este ensaio.

Este produto não detecta anticorpos IgM ou IgA, ou anticorpos para glicoproteínas plaquetárias que não as IIb/IIIa e HLA Classe I.

Não foram testadas plaquetas sensibilizadas In vivo com este produto.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE PERFORMANCE

Quando armazenado convenientemente e utilizado de acordo com os procedimentos descritos acima, este produto pode detectar anticorpos IgG reactivos com epitopos nas glicoproteínas HLA classe I ou PGIIB/IIIa.

Para assegurar uma reactividade e especificidade adequadas, cada lote de MACE<sup>®</sup> 1 é testado, antes de ser colocado no mercado, com amostras que contêm anticorpos reactivos com as glicoproteínas identificadas na Folha de Registo incluída bem como amostras conhecidas sem tais anticorpos

### Avaliação de Performance

#### Método Comparativo

MACE <sup>®</sup> 1		Positivo	Negativo	Total
	Positivo	45	1	46
	Negativo	1	64	65
	Total	46	65	111

Concordância: 98.2%

Co-positividade: 97.9%      Co-negatividade: 98.4%

Método Comparativo: GTI-PAK<sup>®</sup> 2

### REFERÊNCIAS

1. Kunicki TJ, Aster RH: Isolation and immunologic characterization of the human platelet isoantigen PI(A1). Mol Immunol 1979; **16**: 353
2. Friedman JM, Aster RH: Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura and congenital porencephaly in two siblings associated with a new maternal antiplatelet antibody. Blood 1985; **65**: 1412
3. Furihata K, Nugent DJ, Aster RH, Kunicki TJ: Anti-Pen(a) binds specifically to an epitope on platelet glycoprotein IIIa. Blood 1986; **68**: 107, (suppl 1) (abstr).
4. Simon T, Collins J, Kunicki T, Furihata K, Smith K, Aster RH: Post-transfusion purpura with antiplatelet antibody specific for the platelet antigen Pen<sup>a</sup>. Blood 1986; **68**: 117 (abstract)
5. Woods VL, Oh EH, Mason D, McMillan R: Autoantibodies against the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex in patients with chronic ITP. Blood 1984; **63**: 368
6. McMillan R, et al. Blood 1987; **70**: 1040-1045
7. Howard JE, Perkins HA. The natural history of alloimmunization to platelets. Transfusion 1978; **18**: 496
8. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiemik PH. Alloimmunization following platelet transfusion: the absence of dose-response relationship. Blood 1981; **57**: 395
9. Schiffer CA. Clinical importance of antiplatelet antibody testing for the blood bank. In: A seminar on antigens on blood cells and body fluids. Washington DC: American Association of Blood Banks; 1980: 189-208



#### MACE<sup>®</sup> 1

- UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*
- ARMAZENAR A 2 to 8°C

#### GTI DIAGNOSTICS<sup>®</sup>

Good science starts with people.<sup>®</sup>

20925 Crossroads Circle, Suite 200  
Waukesha, WI 53186-4054 USA  
(262) 754-1000 OR 1-800-233-1843



REF

MACE1

Rev. 2008-03-18 (P)



Qarad b.v.b.a.  
Volmolenheide 13  
B-2400 Mol  
Belgium

[www.gtidiagnostics.com](http://www.gtidiagnostics.com)