

CAPTURE-P®

Sistema de Fase Sólida para Detecção de Anticorpos IgG destinados a Plaquetas

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

340pt-13



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



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, contatar o serviço de atendimento ao consumidor através do SAC 0800-707-3855 ou através do email fresenius.br@fresenius-kabi.com.

Utilização:

Solid Phase System for the Detection of IgG Antibodies to Platelets

Sistema de Fase Sólida para a Detecção de Anticorpos da Classe IgG dirigidos a Plaquetas

O Sistema de Fase Sólida Capture-P® está indicado para utilização na detecção de anticorpos dirigidos a plaquetas.

Sumário do Teste:

A destruição imunológica de plaquetas pode ocorrer em doentes com determinadas doenças hematológicas (ou seja, leucemia, lúpus eritematoso sistêmico e outras doenças vasculares e do colagénio) com infecções de origem viral ou nos doentes que ficaram aloimunizados através de gravidez ou transfusão.¹⁻³ Os testes ▲ de detecção de anticorpos in vitro (por ex. pesquisa ou prova cruzada (crossmatching) de anticorpos⁴⁻⁷) são usados para detetar a presença destes anticorpos em soros de doentes (ou de dadores). As plaquetas selecionadas são incubadas com o soro a ser testado, em condições tais, que seja possível demonstrar a atividade do anticorpo.⁸ O Sistema de Fase Sólida Capture-P é concebido para detetar anticorpos antiplaquetários irregulares (teste de pesquisa de anticorpos) num doente ou numa população de dadores.

Princípio do Teste:

O Capture-P é um sistema de detecção de anticorpos de fase sólida, modificado através de procedimentos publicados por Rachel et al.⁸ Juji et al.⁹ e Shibata et al.¹⁰ As plaquetas do doente ou do dador são, inicialmente, ligadas às superfícies dos poços de microplacas de poliestireno. São posteriormente utilizadas para captar os anticorpos antiplaquetários presentes no soro do doente ou do dador. Faz-se uma incubação rápida do soro nos poços revestidos com plaquetas, de forma a permitir que os anticorpos, caso existam, se liguem às plaquetas. As imunoglobulinas livres são removidas dos poços por lavagem, e substituídas por uma suspensão de glóbulos vermelhos indicadores sensibilizados com anti-IgG. A centrifugação vai possibilitar o contacto dos glóbulos vermelhos indicadores com os anticorpos ligados às plaquetas imobilizadas. No caso de testes positivos, a migração dos glóbulos vermelhos indicadores para o fundo dos poços é impedida, devido à formação de pontes de anti-IgG entre os glóbulos vermelhos indicadores e os anticorpos ligados às plaquetas. Como consequência desta ligação, os glóbulos vermelhos indicadores vão cobrir as plaquetas imobilizadas na forma de uma monocamada confluyente. Pelo contrário, na ausência de interações anticorpo-antígeno plaquetário, ou seja, teste negativo, os glóbulos vermelhos indicadores não vão ser impedidos durante a sua migração e aglomeram-se no fundo dos poços, muito concentrados, formando botões de glóbulos muito bem definidos. As plaquetas ▲ que foram lavadas com a Solução de Lavagem e Conservação de Plaquetas e livres de elementos celulares não plaquetários e proteínas do plasma contaminantes, podem ser usadas para preparar monocamadas nos poços de teste de Capture-P.

Reagentes:

Poços de Teste do Capture-P: Tiras de 1 x 8 poços com fundo rígido em forma de U revestidos com um agente específico de ligação às plaquetas. Cada tira tem capacidade para 8 testes individuais. As tiras vêm fechadas numa bolsa de folha de alumínio, à qual foram adicionados dessecantes e um indicador de humidade. Armazene as tiras entre 1-10 °C entre utilizações. Se o indicador de humidade contido na bolsa mostrar a presença de humidade através da mudança de azul para cor-de-rosa, as tiras não

Legenda:

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

IMMUCOR

devem ser usadas. As tiras podem ser utilizadas individualmente ou em série. As tiras que não forem usadas, o dessecante e o indicador de humidade devem ser fechados imediata e cuidadosamente nas bolsas de alumínio, para evitar a exposição à humidade, a qual pode destruir o agente de ligação. Não devem ser usadas as tiras que estiverem dentro de bolsas, nas quais o indicador de humidade mostrou a presença de humidade. **As tiras retiradas das bolsas devem ser usadas no espaço de 30 minutos.**

Reagentes Auxiliares para os Poços de Teste Capture:

(Adquiridos em separado)

Capture LISS: uma solução de baixa força iónica contendo glicina, corante púrpura de bromocresol e azida sódica (0,1%) como conservante*. Armazenar a 1-10 °C.

Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P: uma suspensão de glóbulos vermelhos sensibilizados com anti-IgG humano de coelho. Os glóbulos vermelhos são suspensos numa solução tamponada à qual foram adicionados cloranfenicol (0,25 mg/mL), sulfato de neomicina (0,1 mg/mL) e sulfato de gentamicina (0,05 mg/mL) como conservantes. É normal que os glóbulos vermelhos indicadores se agreguem ligeiramente durante o armazenamento entre 1-10 °C.

Soro de Controlo Positivo (Fraco) Capture-P: contém anticorpos dirigidos a plaquetas. Foi adicionada azida sódica (0,1%) como conservante*. Armazenar a 1-10 °C.

Soro de Controlo Negativo Capture-P: não contém anticorpos dirigidos a plaquetas. Foi adicionada azida sódica (0,1%) como conservante*. Armazenar a 1-10 °C.

Os componentes (Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P, Capture LISS, Soros de Controlo Capture-P, poços de teste de Capture-P) utilizados para a execução de testes de Capture P, podem ser usados com outros, independentemente do número de lote, desde que estejam todos dentro do prazo de validade.

Precauções:

Para utilização em diagnóstico in vitro.



Este reagente contém 0,1% de azida sódica. Aviso: H302 Prejudicial se engolido.

A azida sódica pode reagir com ligas de cobre e chumbo e formar compostos explosivos. Se for despejada para um lavatório, deitar em seguida uma grande quantidade de água para evitar que a azida se acumule.

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

Manusear e inutilizar o reagente como potencialmente infecioso.

ATENÇÃO: TODOS OS PRODUTOS DO SANGUE DEVEM SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. A MATÉRIA-PRIMA PARA O FABRICO DESTES PRODUTOS OBTIVERAM RESULTADOS NEGATIVOS, QUANDO TESTADA DE ACORDO COM OS TESTES HABITUALMENTE EXIGIDOS PELA FDA. NÃO EXISTEM NENHUM MÉTODO DE TESTE CONHECIDO QUE POSSAM GARANTIR QUE OS PRODUTOS DERIVADOS DE SANGUE HUMANO NÃO TRANSMITAM AGENTES INFECCIOSOS.

Do not use Capture Test Wells if humidity indicator turns from blue to pink

Não usar os poços de Teste de Capture, se o indicador de humidade muda de azul para cor-de-rosa

Não usar as tiras em que o indicador de humidade mudou de azul para cor-de-rosa.

After opening pouch store unused strip wells in sealed pouch with desiccant and moisture indicator

Após a abertura da bolsa, conservar as tiras que não foram usadas, em bolsas fechadas com o dessecante e o indicador de humidade.

Colheita e Preparação da Amostra:

Fonte de plaquetas: As amostras das plaquetas dos dadores devem ser recolhidas em EDTA, ACD, CPD ou CPDA-1. Não podem ser usadas amostras coaguladas. O plasma rico em plaquetas tem de ser separado dos glóbulos vermelhos após a sua recolha e armazenado em tubos de teste de polipropileno ou polietileno entre 20-25 °C. Os testes têm de ser realizados no espaço de 24 horas. Os segmentos piloto selados retirados da plaqueta por aférese ou de sacos de concentrados têm de ser testados no espaço de 24 horas, enquanto selados. As plaquetas obtidas diretamente da plaqueta por aférese ou dos sacos de concentrados podem ser utilizadas no prazo de validade destas unidades. (Ver LIMITAÇÕES para mais informação relacionada com a utilização dos concentrados plaquetários.)

Plasma ou Soro do Doente e do Dador: Colher uma amostra de sangue utilizando uma técnica de flebotomia correta. As amostras podem ser colhidas em EDTA, ACD, CPD ou CPDA-1, ou sem anticoagulante. Os testes devem ser realizados logo que possível para minimizar a possibilidade de ocorrerem reações falsamente positivas ou falsamente negativas, devido a armazenamento impróprio ou à contaminação da amostra. Recomenda-se que o soro ou plasma que não possa ser testado de imediato seja armazenado entre 1-10 °C, logo que possível, ou congelado. Não utilizar amostras colhidas em tubos com separadores de gel neutro. Podem ser obtidos resultados falso-positivos com tais amostras.

Procedimento:

Materiais Fornecidos:

1. Poços de teste de Capture-P em bolsas seladas

Outros Reagentes Necessários:

1. Capture LISS em frascos de conta-gotas
2. Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P em frascos de conta-gotas
3. Soro de Controlo Positivo (Fraco) Capture-P em frascos de conta-gotas
4. Soro de Controlo Negativo Capture-P em frascos de conta-gotas

Outros reagentes (Opcional):

1. Solução de Lavagem e Conservação de Plaquetas

Outros Materiais Necessários:

1. Plaquetas de dador ou de doente
2. Soro ou plasma do dador de plaquetas e/ou do recetor da transfusão
3. Pipetas de plástico (Nota: não devem ser usadas pipetas de vidro)
4. Tubos de 10 x 75 mm de polipropileno ou polietileno (Nota: não devem ser usados tubos de vidro ou de poliestireno)
5. Centrífuga e rotor com capacidade para placas rígidas de microtitulação com 96 poços ou tiras de poços.
6. Estufa ou bloco de calor 37 °C
7. Soro fisiológico tamponado com fosfato (aproximadamente 15 mM), pH 6,5-7,5
8. Pente para dispensa ou pipetadores concebidos para placas de microtitulação
9. Cronómetro
10. Superfície iluminada
11. Marcadores
12. Centrífuga e rotor com capacidade para tubos de teste de 10x75 mm*.

Equipamento opcional: O dispositivo de lavagem semi-automático CSW 100 da Immucor foi concebido para utilização com o Capture-P.

* É da responsabilidade do utilizador a validação do dispositivo (listado ou outro) que entender usar. A validação dos resultados deverá ser mantida como uma parte dos registos do laboratório, para revisão pelas entidades competentes de certificação.

Método de Teste:

TER EM ATENÇÃO: As plaquetas utilizadas no procedimento de deteção de anticorpos têm de ser ABO-compatíveis com o soro/plasma em teste. Podem ser utilizadas plaquetas cujos antigénios tenham sido caracterizados em testes anteriores ou não.

1. Antes de proceder ao teste, todos os reagentes do teste de Capture devem estar entre 18-30 °C.
2. Preparar a amostra de plaquetas a ser testada da seguinte forma:

a. Sangue total colhido em EDTA ou outros anticoagulantes: Centrifugar a amostra a 200 x g* durante 10 minutos. Remover a fração plasma rico em plaquetas (PRP) com uma pipeta de plástico e transferir para um tubo de teste de plástico. (Nota: o plástico usado deve ser polipropileno ou polietileno.)

b. Concentrado plaquetário recolhido em ACD ou outros anticoagulantes: remover uma alíquota do concentrado através do segmento piloto ou da unidade do dador e transferir para um tubo de teste de plástico (polipropileno ou polietileno). Esta amostra vai ser usada como o equivalente do plasma rico em plaquetas (PRP).

Nota: As amostras de plaquetas obtidas apartir de amostras cuja contagem de plaquetas é superior ao nível aceitável descrito nas LIMITAÇÕES, por exemplo, derivadas de produtos plaquetários por aférese, devem ser diluídas, dentro do intervalo aceitável, com recurso a um diluente. Consultar a secção das LIMITAÇÕES para mais informações relativas à utilização dos concentrados de plaquetas.

c. Também podem ser usadas plaquetas preparadas e armazenadas, até 14 dias, na Solução de Lavagem e Conservação de Plaquetas (PWSS), de acordo com o folheto informativo do fabricante. NOTA: As plaquetas armazenadas em PWSS entre 1-10 °C devem atingir a temperatura ambiente antes dos testes de Capture-P. Suspensões frias de plaquetas não aderem adequadamente. Devem ser rejeitadas as alíquotas de plaquetas armazenadas em PWSS que apresentem evidência de contaminação microbiana.

3. Retirar da bolsa protetora o número necessário de poços de teste de Capture-P. Inspeccionar o indicador de humidade contido na bolsa. Se o indicador de humidade mostrar a presença de humidade, não usar a(s) tira(s).
4. Usando uma pipeta de plástico, adicionar 1-2 gotas (50-100 µL) da amostra de plaquetas a cada um dos primeiros cinco poços da tira 1. (Ver Figura 1). Um dos poços deste conjunto vai servir como CONTROLO POSITIVO (fraco) e um segundo como CONTROLO NEGATIVO. Dos três poços restantes da fila 1, dois vão ser usados para o teste de deteção de anticorpos. (É opcional executar o teste de deteção de anticorpos em duplicado). O quinto poço (opcional) vai funcionar como controlo das plaquetas do dador.

Nota: pools de múltiplas amostras de plaquetas ABO-compatíveis podem ser usadas para a preparação das monocamadas plaquetárias nos poços de controlo. O uso de tais pools minimiza o risco estatístico de uma reação negativa legítima com o controlo positivo fraco, na eventualidade de uma amostra de plaquetas ser negativa para o antigénio, para o qual o controlo positivo fraco é dirigido.

5. Adicionar 1-2 gotas (50-100 µL) de PRP da próxima amostra de plaquetas aos três poços seguintes. Prosseguindo do mesmo modo, adicionar PRP das restantes amostras de plaquetas aos poços apropriados da placa.

Fig. 1 Poços de Tira de Teste Capture-P

		FILA					
		1	2	3	4	5	6
POÇOS	A	○	○	○	○	○	○
	B	○	○	○	○	○	○
	C	○	○	○	○	○	○
	D	○	○	○	○	○	○
	E	○	○	○	○	○	○
	F	○	○	○	○	○	○
	G	○	○	○	○	○	○
	H	○	○	○	○	○	○

6. Centrifugar a placa a 45-65 x g* durante 5 minutos.

7. Para remover o excesso de plaquetas livres e plasma, decantar e proceder à lavagem da(s) tira(s) através de uma técnica de lavagem manual ou semiautomática.

a. Técnica de Lavagem Manual:

- i. Decantar o fluido dos poços.
- ii. Encher os poços da tira com soro fisiológico com uma pipeta multicanal ou um pente de pipetagem concebido para microplacas. Em alternativa, pode ser usado um frasco de soro fisiológico com esquiço de lavagem. O soro fisiológico não deve ser adicionado com força excessiva, pois pode fazer com que a monocamada de plaquetas se descole da placa.
- iii. Decantar completamente os poços, invertendo manualmente a tira num lavatório ou recipiente de resíduos com vários movimentos rápidos, decantando o soro fisiológico dos poços.
- iv. Lavar os poços, no mínimo seis vezes, com soro fisiológico.

Legenda:

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

b. Técnica de Lavagem Semi-automática:

Na lavagem com equipamento semi-automático, consultar as instruções fornecidas no manual do lavador.

NOTA: O dispositivo de lavagem automática deve ser ajustado de tal forma que aproximadamente 4-8 uL de soro fisiológico se mantenham em cada poço depois da aspiração. Os poços não devem ser aspirados até estarem secos.

Examinar os poços lavados após o ▲ processo de lavagem para avaliar a conformidade dos poços de teste. As plaquetas corretamente imobilizadas devem dar uma aparência ligeiramente opaca no fundo dos poços de teste, sem a presença de gotículas. As gotículas indicam a presença de plaquetas livres. Os poços devem continuar a ser lavados até que este aspeto referido desapareça. ATENÇÃO: As técnicas de lavagem excessiva ou vigorosa podem desalojar ou criar perfurações na camada de plaquetas imobilizada.

8. Adicionar imediatamente 2 gotas ▲ de Soro de Controlo LISS em cada poço, utilizando o conta-gotas disponibilizado ou uma pipeta calibrada com um volume de 100 uL (+/- 10 uL).

NOTA: Os fluidos como Capture LISS, soro fisiológico ou Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P devem ser adicionados aos poços das placas decantadas assim que possível, caso contrário, os poços começarão a secar. A secura leva à rotura da monocamada de plaquetas.

9. Adicionar uma gota ▲ de Soro de Controlo Positivo (Fraco) Capture-P ao primeiro poço da fila 1, utilizando o conta-gotas fornecido ou uma pipeta calibrada com um volume de 50 uL (+/- 5 uL). Adicionar uma gota ▲ de Soro de Controlo Negativo Capture-P ao segundo poço, utilizando o conta-gotas fornecido ou uma pipeta calibrada com um volume de 50 uL (+/- 5 uL).
10. Adicionar 1 gota (50 ± 5 uL) do soro ou plasma do doente aos poços C e D da fila 1 e a outros que contenham plaquetas imobilizadas.
11. Adicionar 1 gota de soro ou plasma de cada dador ao poço que contém as plaquetas do mesmo dador (CONTROLO DE PLAQUETAS DO DADOR). (OPCIONAL).
12. Agitar a placa para misturar o soro e o potenciador, batendo suave e repetidamente nas extremidades da mesma. NOTA: Na presença de soro ou plasma, a cor púrpura do Capture LISS irá mudar para azul celeste ou turquesa. A permanência da cor púrpura indica que o soro foi inadvertidamente omitido do teste.
13. Incubar a placa entre 36-38 °C durante 30-60 minutos. Não incubar para além dos 60 minutos. Adicionar 5 minutos ao período de incubação se for usado um bloco de calor seco.
14. Decantar ou aspirar a mistura amostra-LISS da(s) tira(s) e depois passar à lavagem da(s) tira(s) através de uma técnica de lavagem manual ou semi-automática.
- a. Técnica de Lavagem Manual:
- Decantar o fluido dos poços.
 - Encher os poços da tira com soro fisiológico com uma pipeta multicanal ou um pente de pipetagem concebido para microplacas. Em alternativa, pode ser usado um frasco de soro fisiológico com esquiço de lavagem. O soro fisiológico não deve ser adicionado com força excessiva, pois pode fazer com que a monocamada de plaquetas se descole da placa.
 - Decantar completamente os poços, invertendo manualmente a tira num lavatório ou recipiente de resíduos com vários movimentos rápidos, decantando o soro fisiológico dos poços.
 - Lavar os poços, no mínimo seis vezes, com soro fisiológico.

b. Técnica de Lavagem Semi-automática:

Na lavagem com equipamento semi-automático, consultar as instruções fornecidas no manual do lavador.

NOTA: O dispositivo de lavagem automática deve ser ajustado de tal forma que aproximadamente 4-8 uL de soro fisiológico se mantenham em cada poço depois da aspiração. Os poços não devem ser aspirados até estarem secos.

ATENÇÃO: As técnicas de lavagem excessiva ou vigorosa podem desalojar ou criar perfurações na camada de plaquetas imobilizada.

15. ▲ Adicionar uma gota ▲ de Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P, utilizando o conta-gotas fornecido ou uma pipeta calibrada com um volume de 50 uL (+/- 5 uL).
16. Centrifugar a placa a 700-900 x g* durante 1 minuto.
17. Colocar a placa sobre uma superfície bem iluminada e examinar a presença ou ausência de aderência dos glóbulos vermelhos indicadores. (Uma reação positiva é indicada pela aderência dos glóbulos vermelhos indicadores à superfície do fundo do poço. Uma reação negativa é indicada por um botão concentrado no centro do fundo dos poços). Registrar os resultados.
18. Comparar cada resultado do teste de deteção de anticorpos com os obtidos com os soros de controlo, positivo e negativo, e o do controlo de plaquetas do dador. O teste deve ser repetido em caso de obtenção de uma reação duvidosa (esbatimento irregular, não concêntrico) ou se com os controlos positivo e/ou negativo não se obtiveram os resultados apropriados. O teste de deteção de anticorpos é negativo, quando ambos os poços do teste e o controlo de plaquetas do dador produzirem

reações negativas. O teste é considerado positivo se ambos os poços do teste, mas não o do controlo de plaquetas do dador, mostrarem uma reação positiva. Se ambos os testes de deteção de anticorpos realizados com algumas das amostras de plaquetas não apresentarem os mesmos resultados, devem ser repetidos. Um controlo de plaquetas do dador positivo invalida os resultados positivos, obtidos no teste de deteção de anticorpos, uma vez que as plaquetas do dador podem ter sido revestidas com anticorpo, antes da realização do teste.

*Os valores dados para a força g são aproximações das velocidades necessárias para produzir o grau de aderência pretendido. A força g (ou rpm) e tempo apropriados têm de ser determinados individualmente para cada centrífuga usada.

Estabilidade da Reação:

Após a última centrifugação, os testes podem ser lidos imediatamente. As reações permanecem estáveis até 48 horas após a centrifugação quando as placas são envolvidas numa película, como por exemplo PARAFILM®, e armazenadas entre 1-10 °C.

Controlo da Qualidade:

A reatividade em cada teste do sistema de teste Capture-P é avaliada pela inclusão de testes de controlo positivo e negativo. Se na execução de um teste o Soro de Controlo Positivo não produzir um resultado positivo e/ou o Soro de Controlo Negativo não produzir um resultado negativo, todos os testes têm de ser repetidos. Falhas sucessivas na obtenção dos resultados esperados com os soros de controlo, podem indicar que um ou mais reagentes estão deteriorados, ou que os testes têm vindo a ser incorretamente realizados.

Interpretação dos Resultados:

Teste negativo: botão de glóbulos vermelhos indicadores no fundo do poço de teste, sem área de aderência detetável.

Teste positivo: aderência dos glóbulos vermelhos indicadores a parte ou a toda a superfície de reação.

Limitações:

Podem ocorrer resultados de teste erróneos, se tiver havido contaminação bacteriana ou química dos materiais de teste, períodos de incubação inadequados, centrifugação imprópria, lavagem inadequada dos poços de teste ou omissão dos reagentes ou passos de teste.

Deve-se ser cuidadoso e assegurar-se de que nos procedimentos de deteção de anticorpos os poços estão revestidos com quantidades suficientes de plaquetas, pois as monocamadas com plaquetas insuficientes vão conduzir a resultados de teste falso-positivos. Pode obter-se um revestimento insuficiente de plaquetas, se durante a preparação da monocamada forem usados tempos ou velocidades de centrifugação inadequados. Além disso, uma lavagem excessiva ou demasiado vigorosa dos poços, pode conduzir a uma destruição das plaquetas imobilizadas do fundo dos poços.

As reações entre um anticorpo e o seu antígeno podem ficar enfraquecidas se na lavagem dos poços, revestidos com membranas, for usado soro fisiológico ácido não tamponado, antes da adição dos glóbulos vermelhos indicadores na fase final do teste. Obtêm-se melhores resultados com soro fisiológico isotónico tamponado para um pH de 6,5-7,5.¹¹

As amostras contendo um elevado número de agregados plaquetários vão produzir camadas irregulares de plaquetas aderentes, devido à ligação não só dos agregados mas também das plaquetas não agregadas. Os agregados podem impedir os glóbulos vermelhos indicadores de assentarem devidamente durante a centrifugação. Podem ocorrer resultados falsamente positivos se as plaquetas utilizadas tiverem sido revestidas com moléculas de IgG in vivo (ou seja, com um teste de antiglobulina direto positivo). Estas plaquetas vão produzir reações positivas no teste de controlo das plaquetas do dador. Se as plaquetas utilizadas não são ABO-compatíveis com o soro em teste, podem ocorrer resultados positivos indesejáveis.

Uma centrifugação excessiva dos testes, após a adição dos glóbulos vermelhos indicadores, pode resultar em reações falsamente negativas ou positivas duvidosas, devido à destruição da camada aderente. A falha de obtenção de reações pouco evidentes com o Controlo Positivo (Fraco) pode ser uma indicação de que a placa foi sujeita a uma centrifugação excessiva.

A adição de glóbulos vermelhos indicadores em quantidades superiores às descritas neste folheto informativo, pode resultar em reações falsamente negativas ou duvidosas.

Os parâmetros de desaceleração da centrífuga em utilização podem afetar o tipo de reações obtidas no final do teste. Falhas na aplicação de mecanismos de travagem em unidades com tempos prolongados de desaceleração, podem resultar em reações

Legenda:

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

falsamente negativas. De modo inverso, a travagem em centrífugas com tempos de desaceleração curtos, pode também conduzir a resultados de teste erróneos.

As amostras de soro que não coagularam completamente podem conduzir à obtenção de resultados erróneos. Nestas amostras, o processo de coagulação pode continuar mesmo depois de estas terem sido adicionadas aos poços do teste do Capture-P. A consequência desta coagulação é o aparecimento numa fina camada de uma substância de tipo gel, por cima da monocamada de plaquetas. Os glóbulos vermelhos indicadores, quando adicionados aos poços revestidos com este tipo de material, não são capazes de produzir padrões adequados de positividade ou negatividade durante a centrifugação. Após a centrifugação, os glóbulos vermelhos indicadores vão aparecer como um botão solto a flutuar no poço de teste, o qual muda de posição quando a placa é virada para vários ângulos.

A concentração das plaquetas utilizadas para preparar as monocamadas pode afetar os resultados dos testes de deteção de anticorpos plaquetários. Quando a suspensão de plaquetas contém poucas plaquetas (contagem inferior a 10 000/mm³) podem formar-se monocamadas incompletas, originando resultados falso-positivos. Se a contagem de plaquetas for demasiado elevada (superior a 350 000/mm³), podem ocorrer resultados falso-negativos. As plaquetas caracterizam-se por serem aderentes. Quando existem em excesso numa suspensão, aderem umas às outras durante a preparação de monocamadas na fase de centrifugação. Não são completamente removidas durante a primeira lavagem. Como consequência, fica uma segunda camada por cima da monocamada inicial. Contudo, a segunda camada não está tão firmemente ligada como a primeira, a qual está agarrada ao agente de ligação no fundo do poço. Após a incubação e a segunda lavagem, a segunda camada pode ser eluída, desaparecendo com ela os anticorpos antiplaquetários.

As suspensões de plaquetas a aproximadamente 20 000/mm³ fornecem plaquetas em quantidade suficiente para a preparação das monocamadas. A aparência destas suspensões é ligeiramente turva. A contagem de plaquetas dentro desta gama pode ser calculada a olho nu, de modo idêntico à estimativa efetuada por um técnico, para a preparação de uma suspensão de glóbulos vermelhos a 2-4%. As suspensões de plaquetas com contagens superiores a 350 000 podem ser diluídas, adicionando um diluente conservante como a Solução de Lavagem e Conservação de Plaquetas.

A adição de glóbulos vermelhos indicadores por defeito, como o que pode ocorrer como consequência de uma agitação inadequada dos reagentes ou por hemólise dos glóbulos vermelhos, irá causar falsos resultados positivos fracos. A utilização de glóbulos vermelhos indicadores que estejam a temperatura inferior a 18 °C, podem causar falsos resultados positivos fracos.

A falha do Soro de Controlo Positivo Capture-P em apresentar um resultado positivo é uma indicação da neutralização dos glóbulos vermelhos indicadores.

Não existe nenhum método laboratorial capaz de detetar todos os anticorpos irregulares dirigidos a plaquetas.

Caraterísticas Específicas de Desempenho:

As avaliações clínicas realizadas por três laboratórios independentes, demonstraram que o Sistema de Fase Sólida Capture-P é capaz de detetar anticorpos dirigidos a plaquetas no soro ou no plasma. Antes do estudo, cada laboratório usou amostras clínicas que tinham sido caracterizadas por um procedimento de referência (ou seja, ELISA, imunofluorescência ou linfocitotoxicidade). O sistema de teste Capture-P demonstrou detetar anticorpos para os antígenos HLA-A e HLA-B das plaquetas e para os antígenos específicos das plaquetas (ou seja, P1^{a1}).

Algumas amostras de doentes que foram negativas para anticorpos antiplaquetários pelos testes de imunofluorescência (IF)¹² foram positivas pelo teste Capture-P. Alguns destes soros foram testados por procedimentos ELISA, para deteção de anticorpos antiplaquetários e apresentaram um resultado positivo. As especificidades destes soros, positivos por Capture-P e por ELISA e, negativos por IF, não foram determinadas.

O desempenho deste produto depende da aplicação da metodologia recomendada neste folheto informativo. Antes de ser comercializado e para assegurar uma reatividade e especificidade adequada, cada lote do Sistema de Fase Sólida Capture-P é testado com soros de referência contendo anticorpos dirigidos a ambos os antígenos HLA-A e HLA-B ou a antígenos plaquetários específicos, assim como com soros que demonstraram ser isentos destes anticorpos.

Bibliografia:

1. Howard JE, Perkins HA. The natural history of alloimmunization to platelets. *Transfusion* 1978;18:496.
2. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Alloimmunization following platelet transfusion: the absence of a dose-response relationship. *Blood* 1981;57:395.

Legenda:

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

3. 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.
4. Rachel JM, Summers TC, Sinor LT, et al. Use of a solid phase red blood cell adherence method for pretransfusion platelet compatibility testing. *Am J Clin Pathol* 1988;90:63-8.
5. O'Connell BA, Schiffer CA. Donor selection for alloimmunized patients by platelet crossmatching of random-donor platelet concentrates. *Transfusion* 1990;20:314-17.
6. Friedberg RC, Donnelly SF, Mintz PD. Independent roles for platelet crossmatching and HLA in the selection of platelets for alloimmunized patients. *Transfusion* 1994;34:215-20.
7. Murphy S, Varma M. Selecting platelets for transfusion of the alloimmunized patient: a review. *Immunohematology* 1998;14:117-23.
8. Rachel JM, Sinor LT, Tawfik OW, Summers TC, Beck ML, Bayer WL, Plapp FV. A solid-phase red cell adherence test for platelet cross-matching. *Med Lab Sci* 1985;42:194.
9. Juji T, Kano K, Milgrom F. Mixed agglutination with platelets. *Int Archs Allergy appl Immunol* 1972;42:474.
10. Shibata Y, Juji T, Nishizawa Y, Sakamoto H, Ozawa N. Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang* 1981;41:25.
11. Rolih S, Thomas R, Fisher F, Talbot J. Antibody detection errors due to acidic or unbuffered saline. *Immunohematology* 1993;9:15.
12. Von dem Borne, AEG Kr, Verheugt FWA, Oosterhof F, et al. A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. *Brit J Haematol* 1978;39:195.



Código do folheto informativo 340pt-13
Rev 11/14

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