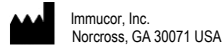


# CAPTURE-P® READY-SCREEN®

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



Immucor, Inc.  
Norcross, GA 30071 USA

342pt-10



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

### 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® Ready-Screen® é utilizado para detectar anticorpos plaquetários específicos e HLA IgG dirigidos a plaquetas.

### Sumário do Teste:

A destruição imunológica de plaquetas pode ocorrer em doentes com determinadas doenças hematológicas (ou seja: leucemia, lupus eritematoso sistémico e outras doenças vasculares e do colagénio) com infecções de origem viral, ou nos doentes que ficaram alo-imunizados através de gravidez ou transfusão.<sup>1,2,3</sup> Os testes de pesquisa de anticorpos *in vitro*, são usados para detectar a presença destes anticorpos em soros de doentes (ou dadores). Os testes de pesquisa de anticorpos dirigidos a plaquetas devem conter um número suficiente de plaquetas para permitir a deteção da maior parte dos anticorpos plaquetários específicos ou HLA. Estes anticorpos, particularmente para os antígenos HLA, podem ser direccionados contra determinantes que ocorrem com uma incidência igual ou inferior a 30 % na população ao acaso. O Capture-P Ready-Screen fornece membranas plaquetárias imobilizadas e desidratadas, de treze grupos de dadores tipo O. O teste foi modificado a partir de procedimentos publicados por Juji et al,<sup>4</sup> Shabita et al,<sup>5</sup> e Rachel et al.<sup>6</sup> Em cada lote do Capture-P Ready-Screen é fornecida uma Lista de Reactividade com indicação de quais as plaquetas reactivas com os soros seleccionados com anticorpos plaquetários específicos ou do sistema HLA. O Capture-P Ready-Screen não está concebido para ser o único teste pelo qual é determinada a especificidade de um anticorpo dirigido a plaquetas.

### Princípio do Teste:

Faz-se uma incubação rápida do soro ou plasma do dador ou doente nos poços revestidos com plaquetas de forma a permitir que os anticorpos, caso existam, se liguem às monocamadas de 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 aderir às plaquetas imobilizadas. Nos testes negativos, em que se verifica uma ausência de interações anticorpo-antígeno plaquetário, os glóbulos vermelhos indicadores não vão ser impedidos durante a sua migração e aglomeram-se no fundo dos poços, muito concentrados e formando botões de glóbulos vermelhos muito bem definidos.

### Reagentes:

**Poços de Teste do Capture-P Ready-Screen:** tiras de 2 x 8 poços com fundo rígido em forma de U, aos quais foram ligadas as plaquetas em monocamadas e depois desidratadas. Cada tira de 2 x 8 vai possibilitar a execução de um teste de pesquisa de anticorpos plaquetários. Foram usadas plaquetas provenientes de treze dadores diferentes para revestir os treze poços em cada tira. Existem dois poços adicionais, que foram revestidos com uma pool de plaquetas e que estão indicados para utilização com os soros de controlo. As tiras vêm fechadas em bolsas de folha de alumínio, às quais foram adicionados dessecantes e um indicador de humidade. Armazenar as tiras a 1-30°C entre utilizações.

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.

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 devem ser usadas. As tiras podem ser usadas individualmente ou em série.

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.

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, que pode destruir as membranas plaquetárias. Não devem ser usadas as tiras, que estiveram 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 uma hora.**

**Lista de Reactividade Capture-P Ready-Screen:** documenta os fenótipos das plaquetas incluídas nos Poços de Teste do Capture-P Ready-Screen, caracterizados com reagentes seleccionados para antígenos plaquetários específicos e HLA.

**Reagentes Auxiliares para os Poços de Teste Capture P:**  
(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. Armazenar a 1°-10°C.

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

Os componentes (poços de teste de Capture-P Ready-Screen, Capture LISS, Soros de Controlo Capture-P, Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P) utilizados para a execução de testes de Capture-P Ready-Screen, 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 e está classificado como Nocivo (Xn). R22 Nocivo se ingerido.

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.

Não usar as tiras cujos indicadores de humidade mudaram de azul para cor-de-rosa. O número e tipo de plaquetas seleccionadas para usar no Capture-P Ready-Screen, proporcionam uma probabilidade razoável de que os anticorpos plaquetários específicos, ou HLA, sejam detectados.

Manusear e inutilizar o reagente como potencialmente infeccioso.

CAUTION: ALL BLOOD PRODUCTS SHOULD BE TREATED AS POTENTIALLY INFECTIOUS. SOURCE MATERIAL FROM WHICH THIS PRODUCT WAS DERIVED WAS FOUND NEGATIVE WHEN TESTED IN ACCORDANCE WITH CURRENT FDA REQUIRED TESTS. NO KNOWN TEST METHODS CAN OFFER ASSURANCE THAT PRODUCTS DERIVED FROM HUMAN BLOOD

ATENÇÃO: TODOS OS PRODUTOS DE ORIGEM SANGÜÍNEA DEVEM SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. A MATÉRIA-PRIMA PARA O FABRICO DESTES PRODUTOS OBTVE RESULTADOS NEGATIVOS, QUANDO TESTADA DE ACORDO COM OS TESTES HABITUALMENTE REQUERIDOS PELA FDA. NÃO EXISTE NENHUM MÉTODO DE TESTE CONHECIDO QUE POSSA GARANTIR, COM SEGURANÇA ABSOLUTA, QUE OS PRODUTOS DERIVADOS DE SANGUE

WILL NOT TRANSMIT  
INFECTIOUS AGENTS.

HUMANO NÃO TRANSMITAM AGENTES  
INFECCIOSOS.

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

### Colheita e Preparação da Amostra:

Soro ou plasma do dador/paciente: Colher uma amostra de sangue usando uma técnica de flebotomia correcta. As amostras podem ser colhidas em EDTA, ACD, CPD, CPDA-1, ou sem anticoagulante. Os testes devem ser realizados logo que possível, após a colheita, para minimizar a possibilidade de ocorrerem reacções 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 a 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 Ready-Screen em bolsas seladas
2. Lista de Reactividade Capture-P Ready-Screen

#### Reagentes Adicionais:

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

#### Outros Materiais Necessários:

1. Soro ou plasma a ser testado
2. Pipetas
3. Tubos de teste
4. Centrífuga e rotor com capacidade para tiras com 2 x 8 poços ou placas de microtitulação com 96 poços\*
5. Estufa ou banho de água a 37°C
6. Soro Fisiológico tamponado com fosfato, pH 6.5-7.5
7. Pente para dispensa ou pipetadores concebidos para placas de microtitulação
8. Cronómetro
9. Superfície iluminada
10. Marcador

#### Equipamento Opcional:

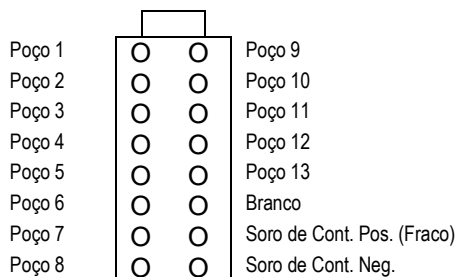
O Capture-P Ready-Screen foi concebido para que lavadores automáticos de microplacas, tais como o CSW 100, possam ser usados, de forma a eliminar o manuseamento manual durante a lavagem.\* Este aspecto reduz os riscos associados ao manuseamento de amostras dos doentes.

\* 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:

1. Antes de se proceder ao teste, todos os reagentes de Capture-P Ready-Screen devem estar a 18-30°C.
2. Retirar da bolsa protectora 1 tira 2 x 8 de Capture-P Ready-Screen. Inspeccionar o indicador de humidade incluído na bolsa. Se o indicador de humidade mostrar presença de humidade, não usar a tira.

Figura 1. Tira de Capture-P Ready-Screen.



3. Adicionar 2 gotas de Capture LISS ( $100 \pm 10$  uL) a todos os poços, excepto no poço designado como branco.
4. Adicionar 1 gota ( $50 \pm 5$  uL) do Soro de Controlo Positivo (Fraco) do Capture-P no poço designado, usando o conta-gotas fornecido (Ver Fig.1). Adicionar 1 gota ( $50 \pm 5$  uL) do Soro de Controlo Negativo Capture-P no poço designado. Estes poços contêm uma pool de plaquetas.
5. Adicionar 1 gota ( $50 \pm 5$  uL) de plasma ou soro do doente aos poços com plaquetas (Poços 1-13) (Ver Fig. 1).
6. Agitar a tira para misturar o soro e o potenciador, batendo suave e repetidamente nas extremidades da placa.

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 pode indicar que o soro/plasma do teste foi inadvertidamente omitido do poço.

7. Incubar a tira a 36-38°C, por um período mínimo de 30 minutos, não excedendo os 60 minutos. (Se a incubação for efectuada numa incubadora sem fluxo de circulação de ar, adicionar mais 5 minutos.)
8. Lavar a tira 6-8 vezes para retirar as imunoglobulinas livres.
  - a. Técnica de Lavagem Manual

ATENÇÃO: A técnica de lavagem manual origina aerossóis. Sempre que testar amostras de sangue humano, os procedimentos que originam aerossóis, devem ser executados de acordo com as regulamentações de segurança emitidas pelo Biosafety Level II do Centro de Controlo de Doenças (Center for Disease Control) ou pelo Departamento de Administração da Saúde e Segurança Ocupacional do Trabalho.

- i) Encher os poços da tira com soro fisiológico, com uma pipeta multicanal ou um pente de pipetagem concebido para tiras de poços. Em alternativa, pode ser usado um frasco de soro fisiológico com esguicho de lavagem. O soro fisiológico não deverá ser adicionado com força excessiva.
- ii) Decantar completamente os poços, invertendo manualmente a tira de poços num lavatório ou recipiente apropriado, e com movimentos rápidos e bruscos, esvaziar a solução salina dos poços. Enxaguar a tira com papel absorvente.

ATENÇÃO: A técnica excessiva ou vigorosa de lavagem, pode desalojar ou criar perfurações nas monocamadas de plaquetas imobilizadas e secas. Como consequência, no fim do procedimento, poderão ser obtidos resultados de teste falsamente positivos.

- b. Técnica de Lavagem Automática

NOTA: Quando usar Tiras de Poços em lavadores automáticos, o suporte (moldura) das tiras tem de estar cheio, com tiras do teste ou com tiras vazias.

- i) Inicializar o equipamento e encher a tubagem com soro fisiológico, de acordo com as instruções do fabricante do equipamento.
- ii) Lavar cada poço, no mínimo 6 vezes, enchendo cada um com pelo menos 300 uL de soro fisiológico, seguido de aspiração do conteúdo do poço com um dispositivo de vácuo. Consultar o manual de operação do equipamento para o correcto uso do dispositivo de lavagem de tiras de poços. Quando se utilizar um lavador automático de tiras de poços, é recomendável fazer duas lavagens de 3 ou 4 ciclos. Após o primeiro ciclo de lavagem, rodar a tira 180 graus. Na eventualidade de uma das pontas de aspiração ou de dispensa do lavador ficar obstruída, a rotação aumenta a probabilidade de serem lavados todos os poços de teste.

Em alternativa, pode ser usado um lavador CSW 100 para lavar os poços. Este lavador foi concebido para aspirar e distribuir em simultâneo. Seleccionar o número de tiras a serem lavadas. Seleccionar o programa de lavagem apropriado, mencionado no manual do operador do equipamento. Pressionar Iniciar. Retirar a placa do lavador quando terminar o ciclo de lavagem automática. Não há necessidade de rodar a placa durante a lavagem.

NOTA: O dispositivo de lavagem tem de ser ajustado, para que permaneça em cada poço aproximadamente 4-8 uL de soro fisiológico, após a aspiração. Os poços não devem ser aspirados até ficarem secos.

9. Adicionar imediatamente a cada poço 1 gota ( $50 \pm 5$  uL) de Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P, com excepção do poço destinado ao branco.
10. Centrifugar imediatamente a tira a 700-900 x g durante 1 minuto. Os valores dados para a força g são aproximações das forças necessárias para produzir o grau de aderência pretendido. O tempo e a força g (ou rpms) apropriados têm de ser determinados individualmente para cada centrífuga utilizada.
11. Colocar a tira sobre uma superfície iluminada e examinar a presença ou ausência de aderência dos Glóbulos Vermelhos Indicadores. Para que os resultados dos testes sejam considerados válidos, sempre que uma placa é testada, devem ser obtidas as seguintes reacções com o Soro de Controlo Capture-P:

Controlo Positivo (Fraco) = aderência dos Glóbulos Vermelhos Indicadores em parte ou em toda a superfície de reacção. Pode ocorrer aderência em forma de botão numa área específica.

Soro de Controlo Negativo = botão de Glóbulos Vermelhos Indicadores no fundo dos poços, sem área de aderência detectável.

Se não forem obtidas as reacções correctas com os Soros de Controlo Capture-P, as reacções de teste podem ser inválidas e os testes na placa têm que ser repetidos.

#### Estabilidade da Reacção:

Após a última centrifugação, os testes podem ser lidos imediatamente. Visto que as reacções positivas são permanentes, as tiras podem ser cobertas, para evitar a evaporação, armazenadas a 1-10°C, e lidas ou relidas até 2 dias, após a execução do teste.

#### Controlo de Qualidade:

O Controlo de Qualidade Diário de todos os componentes do Capture-P Ready – Screen é associado ao sistema de teste pela inclusão dos Soros de Controlo Negativo e Positivo Fraco Capture-P. Estes soros devem ser incluídos em cada tira para ajudar a determinar a ocorrência de erros técnicos ou falhas do reagente. Falhas sucessivas na obtenção dos resultados esperados com os soros de controlo, podem indicar que um ou mais dos reagentes do Capture-P Ready-Screen estão deteriorados, ou que os testes têm vindo a ser incorrectamente realizados.

#### Interpretação dos Resultados:

**Teste negativo:** botão de Glóbulos Vermelhos Indicadores no fundo do poço de teste, sem área de aderência detectável.

**Teste positivo:** aderência dos Glóbulos Vermelhos Indicadores a parte, ou a toda a superfície de reacção.

#### Limitações:

Podem ocorrer resultados de testes 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.

A adição de Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P em quantidades superiores às descritas neste folheto informativo, pode resultar em reacções falsamente negativas ou duvidosas. A adição de um volume menor de Glóbulos Vermelhos Indicadores irá originar resultados falsamente positivos.

O teste de Capture-P Ready-Screen foi concebido para detectar anticorpos IgG. O teste não foi concebido para detectar componentes de complemento ou anticorpos da classe IgM ou IgA.

As características de desaceleração da centrífuga em utilização podem afectar o tipo de reacções obtidas no final do teste. Falhas na aplicação de mecanismos de travagem em unidades com tempos prolongados de desaceleração, podem resultar em reacções falsamente negativas. De modo inverso, a travagem em centrífugas com tempos de desaceleração curtos, pode também conduzir a resultados de teste erróneos.

Uma centrifugação excessiva dos testes, após a adição dos Glóbulos Vermelhos Indicadores Capture-P, pode resultar em reacções falsamente negativas ou positivas duvidosas, devido à destruição da camada aderente. A falha de obtenção de aderência de parcial a completa com o Controlo Positivo (Fraco), pode ser uma indicação de que o teste foi sujeito a uma velocidade ou tempo de centrifugação excessivos.

As reacções 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 de Glóbulos Vermelhos Indicadores na fase final do teste. Obtêm-se melhores resultados com soro fisiológico tamponado a pH 6.5-7.5.<sup>7</sup>

O Capture-P Ready-Screen está indicado para utilização como um teste de pesquisa. O padrão de reacção que uma amostra produz com este produto não deve ser considerado isoladamente, ao estabelecer-se a identificação de um anticorpo plaquetário. Os reagentes de tipagem mencionados na Lista de Reactividade que são usados para testar as plaquetas do Capture-P Ready-Screen, podem conter outros anticorpos para além dos que se encontram registados. As especificidades destes reagentes foram estabelecidas em laboratórios externos e podem ter sido determinadas por outros procedimentos, que não a aderência de glóbulos vermelhos em fase sólida. Em particular, as especificidades dos reagentes anti-HLA foram determinadas em laboratórios externos, por linfocitotoxicidade, um procedimento que detecta o anti-HLA citotóxico, mas não a aglutinação ou sensibilização anti-HLA ou de anticorpos anti-plaquetários. Os anticorpos adicionais nestes reagentes são muitas vezes reactivos em técnica de fase sólida.

#### Características Específicas de Desempenho:

Antes de ser comercializado e para assegurar uma reactividade e especificidade adequada, cada lote de Capture-P Ready-Screen, é testado com soros 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.

A reactividade e especificidade foram determinadas em testes paralelos com o Teste de Aderência de Glóbulos Vermelhos de Fase Sólida Capture-P convencional, para pesquisa de anticorpos dirigidos a plaquetas. O teste de Capture-P Ready-Screen demonstrou especificidade e sensibilidade semelhantes ao teste de Capture-P. O desempenho deste produto depende da aplicação dos métodos recomendados neste folheto informativo.

#### 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.
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. Juji T, Kano K, Milgrom F. Mixed agglutination with platelets. *Int Archs Allergy appl Immunol* 1972; 42: 447.
5. Shabita 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.
6. Rachel JM, Sinor LT, Tawtik OW, Summer TC, Beck ML, Bayer WL, Plapp FV. A solid-phase red cell adherence test for platelet crossmatching. *Med Lab Sci* 1985; 42: 197.
7. Rolih S, Thomas R, Fisher F, Talbot J. Antibody detection errors due to acidic or unbuffered saline. *Immunohematology* 1993; 9: 15.



Código do folheto informativo 342pt-10  
Rev. 9/10



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

#### APRESENTAÇÃO

CAPTURE-P READY-SCREEN - 06 Testes

#### IMPORTADO / DISTRIBUÍDO

Fresenius HemoCare Brasil Ltda.

Rua Roque Gonzáles, 128 - Jd. Branca Flor

Itapeverica da Serra - SP CEP.: 06855-690

CNPJ: 49.601.107/0001-84

Inscr. Est.: 370.023.234.119

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

SAC: 0800-707-3855