



INVITROCLONE AGH-Serum

Soro Antiglobulina Humana

INTRODUÇÃO

A principal função do reagente antiglobulina humana (AGH) é detectar a presença de anticorpos imunes de classe IgG e/ou fração C3d do Complemento.

O teste da antiglobulina humana (TAH) ou teste de Coombs representa a reação de maiores possibilidades em imuno-hematologia. O teste de Coombs pode ser realizado de duas formas: Coombs Indireto (TCI) e Coombs Direto (TCD).

Pelo Teste de Coombs indireto (TCI) executamos pesquisas e identificações de anticorpos anti-eritrocitários, testes de compatibilidade pré-transfusionais e determinações de antígenos eritrocitários que não são evidenciados por aglutinação direta (exs: variáveis fracas de Rh(D), antígenos Duffy, Kidd, Kell, etc). A sensibilidade do teste de Coombs Indireto pode ser aumentada por procedimentos que modificam a primeira etapa da reação, ou seja, da fixação dos anticorpos durante a incubação. Os mais utilizados são: adição de albumina ao meio e soluções de baixa força iônica (LISS).

Pelo teste de Coombs direto (TCD) demonstramos hemácias sensibilizadas “in vivo” por anticorpos anti-eritrocitários e/ou fração C3d do Complemento. É utilizado no estudo da Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHRN), na Anemia Hemolítica Auto-Imune (AHAi), na hemólise induzida por drogas e ainda, no diagnóstico das reações hemolíticas pós transfusionais.

REAGENTES

IVD

O INVITROCLONE AGH-Serum contém anti-IgG de coelho + anti-C3d monoclonal (Bric-8); pronto para uso.

Conservante: < 0,1% NaN3.



Estabilidade: ver prazo de validade no rótulo.

REAGENTES ADICIONAIS NECESSÁRIOS

Solução salina isotônica a 0,9% para suspensão de hemácias.

ImunoScan Albumina

ImunoScan LISS

INVITROCYTE Coombs Control

INVITROCYTE Scan I-II ou INVITROCYTE Screen I-II-III (para pesquisa de anticorpos)

INVITROCYTE Ident 11 (para identificação de anticorpos)

(ver folheto informativo correspondente)

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS

Tubos de suspensão

Suporte para tubos

Pipeta

Centrífuga imuno-hematológica

Incubadora 37° C

AMOSTRA

Os resultados ideais são obtidos se as provas forem realizadas com amostra recente, conforme critérios estabelecidos no manual de normas técnicas vigentes no país. A amostra de sangue deve, de preferência, ser coletada em anticoagulante citrato, EDTA, heparina ou CPD-A. Também é possível utilizar amostra colhida em tubo limpo sem anticoagulante.

O soro, quando utilizado, deve ser centrifugado a 1500 g durante 10 minutos antes de ser utilizado, a fim de evitar a interferência de resíduos de fibrina na reação.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

a.) Plasma ou soro para o Teste de Coombs Indireto (TCI)

Quando a amostra de soro ou plasma não for processada imediatamente, deve ser armazenada entre 2 e 8°C, depois de separada do sedimento de hemácias. Se a amostra de soro não for processada dentro de 48 horas após sua extração, deve ser mantida em temperatura inferior a -20°C.

b.) Suspensão de hemácias para prova cruzada, Teste de Coombs Direto (TCD) e Autocontrole (Ac)

Preparar uma suspensão de hemácias da amostra a 3-5 % com solução salina isotônica, de acordo com o seguinte procedimento:

- Dispensar 1,0 mL de solução salina isotônica num tubo de vidro limpo.
- Adicionar 1 gota (50 µL) do sedimento de hemácias e homogeneizar suavemente antes do uso.

PROCEDIMENTO

I. Teste de Compatibilidade (Prova Cruzada)

1. Identificar os tubos de teste com o nome ou número do receptor e do doador.
2. Pipetar 1 gota (50µL) da suspensão de hemácias do doador no tubo apropriado.
3. Para o autocontrole, pipetar 1 gota (50µL) da suspensão de hemácias do receptor no tubo apropriado.
4. Adicionar 2 gotas (100µL) de plasma ou soro do receptor a todos os tubos.
- 5a. Para o teste Coombs albuminoso, adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan Albumina e homogeneizar. Incubar a 37°C durante 15 a 30 minutos, ou
- 5b. Para o teste LISS/Coombs adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan LISS e homogeneizar. Incubar a 37° C durante 10 minutos.
6. Lavar 3 vezes o conteúdo dos tubos em solução salina isotônica e remover cuidadosamente o sobrenadante.
7. Adicionar 2 gotas (100µL) de INVITROCLONE AGH-Serum.
8. Homogeneizar suavemente e Centrifugar por 30-60 segundos a 125 g (1000 rpm) ou de acordo com protocolo estabelecido para a centrífuga em uso.
9. Ressuspender suavemente o botão de células no fundo do tubo e verificar macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indireta.
10. Confirmar os resultados negativos com o INVITROCYTE Coombs Control.

II. Pesquisa e Identificação de Anticorpos

1. Identificar os tubos de teste com o nome ou número da amostra a ser testada.
2. Pipetar 1 gota (50µL) de cada hemácia-teste (INVITROCYTE Scan, Screen ou Ident 11) nos tubos apropriados.
3. Para o autocontrole, pipetar 1 gota (50µL) da suspensão de hemácias da amostra no tubo apropriado.
4. Adicione 2 gotas (100 µL) de plasma ou soro da amostra a cada tubo de teste.
- 5a. Para o teste Coombs albuminoso, adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan Albumina e homogeneizar. Incubar a 37°C durante 15 a 30 minutos, ou
- 5b. Para o teste LISS/Coombs adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan LISS e homogeneizar. Incubar a 37° C durante 10 minutos.
6. Lavar 3 vezes o conteúdo dos tubos em solução salina isotônica e remover cuidadosamente o sobrenadante.

- 7. Adicionar 2 gotas (100µL) de INVITROCLONE AGH-Serum.
- 8. Homogeneizar suavemente e centrifugar por 30-60 segundos a 125 g (1000 rpm) ou de acordo com protocolo estabelecido para a centrifuga em uso.
- 9. Ressuspender suavemente o botão de células no fundo do tubo e verificar macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indireta.
- 10. Confirmar os resultados negativos com o INVITROCYTE Coombs Control.

III. Teste de Coombs direto (TCD)

- 1. Identificar o tubo de teste com o nome ou número da amostra a ser testada.
- 2. Pipetar 1 gota (50µL) de suspensão de hemácias da amostra para o tubo.
- 3. Adicionar 2 gotas (100µL) de INVITROCLONE AGH-Serum.
- 4. Homogeneizar suavemente e centrifugar por 30-60 segundos a 125 g (1000 rpm) ou de acordo com protocolo estabelecido para a centrifuga em uso.
- 5. Ressuspender suavemente o botão de células no fundo do tubo e verificar macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indireta.
- 6. Confirmar os resultados negativos com o INVITROCYTE Coombs Control.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A) Princípio

Positivo: aglutinação de ± a ++++ indica reação entre anticorpo e antígeno eritrocitário e/ou C3d.
Negativo: inexistência de aglutinação visível indica ausência de reação entre anticorpo e antígeno eritrocitário e/ou C3d.

B) 1. Reações do teste de compatibilidade (Prova Cruzada)

- Reação positiva indica incompatibilidade. Os grupos sanguíneos ABO e Rh(D) do receptor e do doador devem ser verificados, além de pesquisa e identificação do(s) anticorpo(s) em questão. Para determinação completa dos grupos sanguíneos ABO e Rh(D), consulte os respectivos procedimentos.
- Reação negativa indica ausência de anticorpos detectáveis no plasma/soro do receptor dirigidos contra antígeno(s) presente(s) nas hemácias do doador.

B) 2.1. Reações para Pesquisa de anticorpos irregulares (PAI)

- Reações negativas com todas as hemácias-teste indicam a ausência de anticorpos irregulares detectáveis no soro ou plasma da amostra testada.
- Reações positivas com uma ou mais hemácias-teste e autocontrole negativo indicam a presença de anticorpo(s) irregular(es). Transcrever os resultados das reações obtidas na tabela de antígenos correspondente ao lote de INVITROCYTE Scan/Screen em uso.
- A pesquisa de anticorpos irregulares com INVITROCYTE Scan/Screen pode fornecer dados sobre o tipo de anticorpo(s) presente(s). Identificar o(s) anticorpo(s) usando o INVITROCYTE Ident 11.
- Reações positivas com todas as hemácias-teste e autocontrole positivo sugerem a presença de auto-anticorpo(s).

- Em caso de presença de auto-anticorpo(s), realizar auto-absorção por técnicas especiais e refazer a identificação com soro ou plasma absorvido, para revelar possível alo-anticorpo(s) mascarado(s) pelo(s) auto-anticorpo(s).

B) 2.2. Reações para identificação de anticorpos irregulares (IAI)

- Reações positivas com uma ou mais hemácias-teste e autocontrole negativo indicam a presença de anticorpo(s) irregular(es). Transcrever os resultados das reações obtidas na tabela de antígenos correspondente ao lote de INVITROCYTE Ident 11 em uso.
- Reações positivas com todas as hemácias-teste e autocontrole positivo sugerem a presença de auto-anticorpo(s).
- Em caso de presença de auto-anticorpo(s), realizar auto-absorção por técnicas especiais e refazer a identificação com soro ou plasma absorvido, para revelar possível alo-anticorpo(s) mascarado(s) pelo(s) auto-anticorpo(s).

B) 3. Reações para teste de Coombs direto (TCD)

- Reação positiva de ± a ++++ indica a ligação “in vivo” de IgG (ou, mais raramente, de IgA ou de IgM) e/ou C3d às hemácias, devendo-se realizar testes complementares para identificação de alo-anticorpo(s) de origem materna ou auto-anticorpo(s) presentes.
- Reação negativa indica ausência de anticorpos detectáveis.

LIMITAÇÕES

Uso de certas drogas, bem como algumas patologias podem produzir reações positivas indesejadas em testes de antiglobulina humana.
Contaminações bacterianas e/ou químicas, dos materiais ou amostras utilizados podem produzir resultados falso-positivos ou falso-negativos.
O cumprimento estrito dos procedimentos e a utilização do equipamento recomendado são essenciais. O equipamento deve ser verificado regularmente em conformidade com os procedimentos de BPL.
Lavagens inadequadas ou presença de globulinas humanas nos tubos podem neutralizar o soro antiglobulinas humanas (soro de Coombs), produzindo resultados falso-negativos.
Homogeneização inadequada dos tubos de reação pode induzir a interpretações erradas das reações.


BIBLIOGRAFIA

- 1. Technical Manual of the American Association of Blood Banks, 17th edition, 2011.
- 2. Human Blood Groups, second edition, Geoff Daniels, Blackwell Science LTD, 2002.
- 3. Applied Blood Group Serology, 4th Edition by Peter D. Issitt, David J. Anstee, 1998.

PRODUTOS

INVITROCLONE AGH-Serum	
1 x 10 ml	cod. IH.001.50.01
10 x 10 ml	cod. IH.001.50.01-10

Estes produtos são garantidos quanto ao seu comportamento funcional, tal como descrito no rótulo e no folheto informativo. O fabricante declina toda a responsabilidade decorrente da utilização ou venda destes produtos para fins diferentes dos aqui descritos



Scan Diagnóstica Ltda – ImunoScan
Rua Governador Valadares,108
São José da Lapa - MG - Brasil
CNPJ: 18.520.715/0001-30
SAC: (31) 3488-1871

MS: 81034870009
RT: Dr. Múcio Figueiredo Vieira - CRF MG - 6731
Ver. 04/2019