



INVITROLIQ Anti-IgG

Soro monoespecífico anti-IgG

INTRODUÇÃO

A principal função do reagente monoespecífico anti-IgG é detectar a presença de anticorpos imunes de classe IgG.

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 como ImunoScan LISS e ImunosCan PEG.

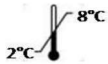
Pelo teste de Coombs direto (TCD) demonstramos hemácias sensibilizadas “in vivo” por anticorpos anti-eritrocitários. É utilizado no estudo da Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHRN), na Anemia Hemolítica Auto-Imune (AHAI), na hemólise induzida por drogas e ainda, no diagnóstico das reações hemolíticas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

REAGENTES

IVD

O INVITROLIQ Anti-IgG contém anti-IgG de coelho; 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.

Albumina 22%

ImunoScan LISS

ImunoScan PEG

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 37º 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:

- Lavar as hemácias 3 vezes em solução salina isotônica.
- Remover completamente o sobrenadante após a última lavagem.

- Dispensar 1,0 mL de solução salina isotônica num tubo de vidro limpo.

- Adicionar 1 gota (50 µL) do sedimento de hemácias lavado 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 Albumina 22% e homogeneizar. Incubar a 37º C durante 15 a 30 minutos, ou

5b. Para o teste LISS/Coombs adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan LISS e homogeneizar. Incubar a 37º C durante 10 minutos.

5c. Para o teste com PEG-LISS adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan PEG e homogeneizar. Incubar a 37º C durante 10 minutos. NÃO CENTRIGUAR.

6. Lavar 3 vezes o conteúdo dos tubos em solução salina isotônica e remover cuidadosamente o sobrenadante.

7. Adicionar 2 gotas (100µL) de INVITROLIQ Anti-IgG.

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

- (150µL) de Albumina 22% 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 37º C durante 10 minutos.
- 5c. Para o teste com PEG-LISS adicionar 2 gotas (100µL) de ImunoScan PEG e homogeneizar. Incubar a 37º C durante 10 minutos. NÃO CENTRIFUGAR.
6. Lavar 3 vezes o conteúdo dos tubos em solução salina isotônica e remover cuidadosamente o sobrenadante.
7. Adicionar 2 gotas (100µL) de INVITROLIQ Anti-IgG.
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.

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 de INVITROLIQ Anti-IgG.
4. Homogeneizar suavemente e Centrifugar por 30-60 segundos a 125 g (1000 rpm) ou de acordo com protocolo estabelecido para a centrífuga 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.

Negativo: inexistência de aglutinação visível indica ausência de reação entre anticorpo e antígeno eritrocitário.

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 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

INVITROLIQ Anti-IgG	
1 x 10 ml	cod. IH.001.50.02
10 x 10 ml	cod. IH.001.50.02-10

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
Av. José Cândido da Silveira, 2100
Belo Horizonte – MG - Brasil
CNPJ: 18.520.715/0001-30
SAC: (31) 3488-1871

MS: 81034870002
RT: Dr. Múcio Figueiredo Vieira - CRF MG - 6731
Ver. 02/2017