

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão SORO DE COOMBS	Página 1 de 5 POPIMUNOHEMATOLOGIAxxx/xx
-------------------------------	---	--

#### Finalidade

O Soro de Coombs é um reagente monoespecífico anti-IgG humano, destinado à detecção *in vitro* de anticorpos da classe IgG pelos testes da antiglobulina direta e indireta. É útil para a detecção de anticorpos, identificação de anticorpos e teste de hemácias de cordão umbilical. Para uso exclusivo de diagnóstico *in vitro*.

#### Princípio do teste

Hemácias humanas normais, na presença de anticorpos direcionados a um antígeno que possuem, podem se tornar sensibilizadas, mas não aglutinar devido à natureza particular do antígeno e anticorpo envolvidos.

O Anti-IgG humano reage com imunoglobulinas ligadas à superfície das hemácias, resultando na aglutinação (aglomeramento) das células sensibilizadas adjacentes. Células não sensibilizadas não serão aglutinadas.

#### Reagente Utilizado - Apresentação

**Composição:** O Soro de Coombs Ebram é um reagente monoespecífico Anti-IgG humano, preparado pela combinação de anticorpos de cabra contra IgG humana, sendo a mistura resultante pré-diluída para a detecção ideal de anticorpos da classe IgG pelos testes de antiglobulina direta e indireta.

Os anticorpos são diluídos em uma solução tamponada contendo albumina bovina.

Cada reagente é fornecido com a diluição adequada, pronto para uso com todas as técnicas recomendadas descritas abaixo, sem necessidade de diluição ou adição adicionais.

**Apresentação:** 1 x 10mL

#### Produto Utilizado

Soro de Coombs ANVISA: 10159820274

Fabricante: Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.

Rua Julio de Castilhos, 500.

Belenzinho – São Paulo – SP – Brasil - CEP: 03059-001

Para maiores informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM:

Tel. (011) 2574-7110 | 0800 500 2424 ou [sac@ebram.com](mailto:sac@ebram.com)

#### Estabilidade

A estabilidade do Soro de Coombs é garantida até a data de validade indicada na embalagem.

#### Armazenamento

- A temperatura de armazenamento deverá ser entre 2º a 8ºC.
- Evitar temperaturas elevadas.
- Não congelar.

#### Cuidados Especiais

- Somente para uso diagnóstico *in vitro*;
- Não utilizar o produto após a data de vencimento;
- Não utilize o reagente se houver precipitado presente;
- Adote as precauções normais necessárias para o manuseio de todos os reagentes de laboratório;
- O reagente foi filtrado através de uma cápsula de 0,2 µm para reduzir a carga microbiana. Uma vez aberto, o conteúdo do frasco deve permanecer estável até a data de validade, desde que não haja turvação acentuada, que pode indicar deterioração ou contaminação do reagente;
- O reagente contém conservante. Não ingerir. Evite contato com a pele e membranas mucosas;
- Considere a amostra de sangue como potencialmente infecciosa, manuseie o descarte conforme as diretrizes aplicáveis.
- Para informações sobre o descarte do reagente e descontaminação do local de derramamento, consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS), disponível no site [ebram.com.br](http://ebram.com.br) ou mediante solicitação ao SAC EBRAM.

#### Preparo do Reagente de Trabalho

O reagente é fornecido pronto para uso.

#### Coleta e preparo de amostras

##### ➤ Para o teste de Antiglobulina Direto (TAD):

O sangue deve ser coletado utilizando técnica asséptica com anticoagulante. A amostra deve ser testada o mais rápido possível após a coleta.

- Se houver atraso na realização do teste, a amostra deve ser armazenada entre 2 a 8ºC. A contaminação bacteriana pode causar falsos resultados.
- O sangue coletado em EDTA deve ser utilizado em até 24 horas.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão SORO DE COOMBS	Página 2 de 5 POPIMUNOHEMATOLOGIAxxx/xx
-------------------------------	---	--

➤ **Para o teste de Antiglobulina Indireta (TAI):**

O soro não deve ser mais de 48 horas. Se for utilizado plasma, anticorpos dependentes de complemento podem não ser detectados.

### Procedimento de Teste

- **Teste de Antiglobulina Direto (TAD):**

**Procedimento:**

- 1- Prepare uma suspensão de hemácias a 5% usando solução salina isotônica.
- 2- Lave as hemácias testes 4 vezes com solução salina 0,9%, tomando cuidado para decantar a solução salina entre as lavagens e ressuspender cada botão celular após cada lavagem.
- 3- Adicione 2 gotas da hemácia teste e 2 gotas do Soro de Coombs em cada tubo.
- 4- Misturar bem e centrifugue todos os tubos por 1 minuto a 1000 rpm ou por tempo e rpm alternativos adequados.
- 5- Ressuspender suavemente o botão celular e observar macroscopicamente a presença de aglutinação.

- **Teste da Antiglobulina Indireto (TAI):**

**Procedimento:**

- 1- Prepare uma suspensão de hemácias teste lavadas a 5% em solução salina a 0,9%.
- 2- Em um tubo de ensaio identificado, adicione: 2 gotas de soro teste e 1 gota da suspensão de hemácias teste.
- 3- Misture bem e incube a 37°C por 30 minutos.
- 4- Incubar em Banho-Maria durante 15 - 30 minutos a 37°C
- 5- Lave as hemácias teste por 4 vezes com solução salina a 0,9%, tomando cuidado para decantar a solução salina entre as lavagens e ressuspender cada botão celular após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última lavagem.
- 6- Adicione 2 gotas de Soro de Coombs em cada tubo.
- 7- Misture bem e centrifugue todos os tubos por 1 minuto a 1000 rpm ou por tempo e rpm alternativos adequados.
- 8- Ressuspender suavemente o botão celular e observar macroscopicamente a presença de aglutinação.

- **Teste Antiglobulina Indireta com LISS (LISS TAI):**

**Procedimento:**

- 1- Prepare uma suspensão de hemácias teste lavadas a 1,5-2% em LISS.
- 2- Em um tubo de ensaio identificado, adicione: 2 gotas de soro teste e 2 gotas da suspensão de hemácias teste.
- 3- Misture bem e incube a 37°C por 30 minutos.
- 4- Lave as hemácias teste por 4 vezes com solução salina a 0,9%, tomando cuidado para decantar a solução salina entre as lavagens e ressuspender cada botão celular após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última lavagem.
- 5- Adicione 2 gotas do Soro de Coombs em cada tubo.
- 6- Misture bem e centrifugue todos os tubos por 1 minuto a 1000 rpm ou por tempo e rpm alternativo adequado.
- 7- Ressuspender suavemente o botão celular e observar macroscopicamente a presença de aglutinação.

### Estabilidade das reações

- As etapas de lavagem devem ser realizadas sem interrupção, e os testes devem ser centrifugados e lidos imediatamente após a adição do reagente.
- Atrasos podem resultar na dissociação dos complexos antígeno-anticorpo, causando resultados falso-negativos ou fraco positivos.
- Deve-se ter cautela na interpretação de resultados de testes realizados em temperaturas diferentes das recomendadas.

### Características de desempenho

- **Positivo:** A aglutinação das hemácias teste constitui um resultado positivo e, dentro das limitações aceitas do procedimento do teste, indica a presença de IgG nas hemácias teste.
- **Negativo:** A ausência de aglutinação das hemácias teste constitui um resultado negativo e, dentro das limitações aceitas do procedimento do teste, indica a ausência de IgG nas hemácias teste.

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão SORO DE COOMBS</b>	<b>Página 3 de 5 POPIMUNOHEMATOLOGIAxxx/xx</b>
--------------------------------------	---	--

#### **Limitações do Procedimento**

Resultados falsos positivos ou falsos negativos podem ocorrer por contaminação química ou por microorganismos, o tempo de incubação ou temperatura inadequados, centrifugação indevida, lavagem inadequada das hemácias ou contaminação em soro humano ou gama globulina e a armazenagem inadequada do reagente.

#### **Interferentes**

O armazenamento prolongado de hemácias antes da execução do teste pode causar deterioração de antígenos e resultar em reações mais fracas.

#### **Precisão**

A precisão foi avaliada por estudos de repetibilidade e reprodutibilidade utilizando hemácias sensibilizadas e não sensibilizadas. Os resultados obtidos foram consistentes entre repetições, operadores e períodos de análise, mantendo-se dentro dos critérios de aceitação estabelecidos.

#### **Sensibilidade**

A sensibilidade analítica foi determinada por titulação de hemácias O RhD positivas sensibilizadas com Anti-D. Os resultados demonstraram intensidade de aglutinação conforme os critérios estabelecidos na Portaria nº 158/2016, com reatividade observada dentro da faixa de diluição especificada.

#### **Especificidade**

A especificidade analítica foi avaliada utilizando hemácias não sensibilizadas com anticorpos IgG. Não foi observada aglutinação nas amostras testadas, demonstrando especificidade adequada do reagente.

#### **Efeito pró-zona**

Nas condições de uso recomendadas nesta instrução de uso, não foi evidenciada ocorrência de efeito pró-zona.

#### **Desempenho clínico**

O desempenho clínico foi avaliado por comparação com kit referência utilizando amostras previamente caracterizadas. Os resultados apresentaram concordância qualitativa com o método de referência, demonstrando sensibilidade e especificidade clínicas adequadas para o uso pretendido.

#### **Observações**

- Recomenda-se que um controle positivo (Anti-D fraco 0,1 IU/mL) e um controle negativo (soro inerte) sejam testados em paralelo com cada lote de teste. Os testes devem ser considerados inválidos se os controles não apresentarem resultados esperados.
- As técnicas de antiglobulinas só podem ser consideradas válidas se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas IgG.
- Nas técnicas recomendadas, um volume correspondente de aproximadamente 50 µL ao usar o conta-gotas fornecido com o frasco.
- O uso dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizados por pessoal adequadamente treinado e qualificado, de acordo com os requisitos do país onde os reagentes estão sendo utilizados. O usuário deve determinar a adequação dos reagentes para uso em outras técnicas.

#### **Limitações do teste**

- Hemácias com TAD positivo devido a um revestimento de IgG não podem ser tipadas pela técnica da Antiglobulina Direta.
- Um TAD positivo devido à sensibilização por complemento pode não refletir a fixação de complemento in vivo se as células testadas forem de uma amostra coagulada refrigerada.
- A lavagem inadequada das hemácias na técnica de Antiglobulina Indireta pode neutralizar o reagente anti-globulina humana. Após a conclusão da fase de lavagem, o excesso de solução salina residual pode diluir a antiglobulina-humana, reduzindo sua potência.
- Um resultado negativo no teste da Antiglobulina Direta não exclui necessariamente o diagnóstico clínico da Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHRN) por incompatibilidade ABO ou Anemia Hemolítica Autoimune. Também não exclui necessariamente a DHRN, especialmente se houver suspeita de incompatibilidade ABO.
- Resultados falsos positivos ou falsos negativos também podem ocorrer devido à:
  1. Armazenamento inadequado, concentração celular, tempo ou temperatura de incubação.
  2. Centrifugação inadequada ou excessiva
  3. O usuário é responsável pelo desempenho do reagente em qualquer método que não seja o mencionado aqui.
  4. Qualquer desvio das técnicas recomendadas deve ser validado antes do uso.
  5. Contaminação dos materiais de teste.

<b>Inserir o nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão SORO DE COOMBS</b>	<b>Página 4 de 5 POPIMUNOHEMATOLOGIAxxx/xx</b>
--------------------------------------	---	--

#### **Garantia**

Este produto é garantido pela Ebram Produtos Laboratoriais Ltda se conservado na temperatura recomendada, utilizado durante o prazo de validade e seguindo recomendações do rótulo e dessa instrução de uso.

#### **Referências Bibliográficas**

1. Coombs RRA, Mourant AE, and Race RR, A New Test for the Detection of Weak and Incomplete Antibodies Brit J Exp Path 1945; 26:255;
2. Wright MS, Issitt PD. Anti-complement and the indirect antiglobulin test. Transfusion 1979; 19:688-694.
3. Howard JE, Winn LC, Gottlieb CE, Grumet FC, Gramatty G, Petz LD. Clinical significance of the anti – complement components of antiglobulin antisera. Transfusion 1982; 22:269.
4. Howell P, Giles CM. A detailed serological study of five anti-Jka sera reacting by the antiglobulin technique. Vox. Sang. 1983; 45: 129-138.
5. Issitt PD, Smith TR. Evaluation of antiglobulin reagents. A seminar on performance evaluation. Washington, DC. American Association of Blood Banks. 1976; 25-73.
6. The anti-complement reactivity low ionic methods as published by FDA. Recommended Methods for Anti – Human Globulin Evaluation (revision October 1984).
7. Arquivos EBRAM.