

Monospezifische Coombs-Seren

Deutsch

B107403 10.13

EINLEITUNG

Monospezifische Coombsseren dienen zur Identifizierung von Plasmaproteinen auf Zelloberflächen. Die in der Immunhämatologie und Blutgruppenserologie relevanten Plasmaproteine sind die Immunglobuline IgG, IgM und gelegentlich IgA und die Komplementkomponenten C3 und C4.

Eine Beladung von Erythrozyten mit diesen Proteinen bedingt bei Verwendung eines guten polyspezifischen Anti-Humanglobulinserums einen positiven Coombstest. Ursache für eine Beladung mit derartigen Plasmaproteinen können sein: Inkomplette Wärmeautoantikörper (Wärmeagglutinine bzw. Wärmeähmolyse), Antikörper vom Donath-Landsteiner-Typ und Kälteagglutinine. Die inkompletten Wärmeagglutinine gehören zur IgG-Klasse und sind also IgG-Moleküle auf der Erythrozytenoberfläche nachweisbar. Die inkompletten Wärmeähmolyse gehören häufig zur IgM-Klasse. Die Donath-Landsteiner-Antikörper gehören zur IgG-Klasse, sind jedoch komplett reagierende Antikörper. Kälteagglutinine sind in der Regel komplett reagierende IgM-Antikörper, nur gelegentlich werden inkomplette IgG-Antikörper beobachtet. In ganz seltenen Fällen wurden zur IgA-Klasse gehörende Kälteagglutinine gefunden.

Die typische Konstellation beim Vorliegen von inkompletten Wärmeantikörpern ist ein positiver Coombstest mit polyvalentem Anti-Humanglobulinserum und monospezifischem Anti-IgG. In einem Teil der Fälle findet man auch positive Reaktionen mit Antikomplementen. Bei Donath-Landsteiner-Antikörpern und Kälteagglutininen findet man dagegen typischerweise eine negative Reaktion mit Anti-IgG und eine positive Reaktion mit Anti-C3, da die Antikörper beim Waschvorgang entfernt werden und lediglich die durch die Antigen-Antikörperkomplexe an die Zelloberfläche fixierten Komplementkomponenten auf der Oberfläche bleiben.

Durch Differenzierung eines positiven direkten Coombstestes mit den monospezifischen Antiseren Anti-IgG und Anti-C3 lassen sich somit schnelle Hinweise auf den vorliegenden Typ des Auto-Antikörpers gewinnen. Die eigentliche Identifizierung erfolgt dann durch Spezifitätsbestimmung, Donath-Landsteiner-Ansatz bzw. Kälteagglutininansatz.

Die monospezifischen Coombsseren werden hergestellt durch Immunisierung von Tieren mit gereinigten Plasmaproteinkomponenten. Die Antimunglobulinserien werden durch verschiedene Absorptionsverfahren Schwerketten-spezifisch gemacht.

Das Anti-C3-Serum enthält Antikörper gegen die C3-Komponenten C3b und die Komponente C3d (Alpha2-D). Die beiden Antikörper-Spezifitäten wurden mit verschiedenen Verfahren nachgewiesen. Das Serum ist frei von jeglicher Anti-Immunglobulinspezifität. Die Spezifitäts- und Aktivitätsprüfungen werden im Hämagglutinationstest durchgeführt, also analog zu den später mit diesen Seren durchzuführenden Tests.

Die monospezifischen Coombsseren Anti-IgM und Anti-IgA dienen zur Abklärung von Fällen, die sich mit Anti-IgG und Anti-C3 nicht klären lassen.

Die monospezifischen Coombsseren sind, wie auch das polyspezifische Anti-Humanglobulin-Serum, frei von Antikörpern der Spezifität Anti-T.

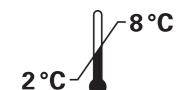
REAGENZIEN



Anti-IgG (γ-Kette), Anti-IgM (μ-Kette), Anti-IgA (α-Kette), Anti-C3, Anti-C4, DiaClon Anti-C3d, monoklonal (Zelllinie: C139-9).

Gebrauchsfertig, nicht verdünnen!

Konservierungsmittel: < 0,1% NaN₃.



Stabilität: siehe Verfallsdatum auf dem Etikett.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN

- 0,9%ige isotone Kochsalzlösung zur Herstellung der Erythrozytensuspension.

WEITERE ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- Suspensionsröhren
- Röhrchenständer
- Pipette
- Immunhämatologische Zentrifuge

PROBENMATERIAL

Für verlässliche Resultate sollte die Bestimmung mit frisch abgenommenen Proben durchgeführt werden oder in Übereinstimmung mit lokalen Laborvorschriften für die Akzeptanz von Probematerial erfolgen. Vorzugsweise sollte die Probengewinnung in den Antikoagulantien Citrat, EDTA oder CPD-A erfolgen. Native Proben (kein Antikoagulant) können auch verwendet werden. Wird Serum anstelle von Plasma verwendet, sollte dieses vor Testansatz 10 Minuten bei 1500 g zentrifugiert werden, damit keine störenden Fibrinreste in dem Testansatz gelangen.

TESTDURCHFÜHRUNG

Wichtig: Anti-IgM und Anti-IgG sind in einer Verdünnungsreihe zu verwenden, um ein Prozonenphänomen nicht zu übersehen.

Test mit Anti-C3, DiaClon Anti-C3d, Anti-C4

1. Die zu untersuchenden Erythrozyten drei mal mit physiologischer Kochsalzlösung waschen und den Überstand abgießen.
2. Eine 3-5%ige Suspension der gewaschenen Erythrozyten in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
3. Pro Ansatz 1 Tropfen Zellsuspension in ein sauberes Röhrchen geben.
4. 1 Tropfen des entsprechenden monospezifischen Serums dazugeben.
5. Gut mischen und 5 Minuten bei Raumtemperatur (18–25 °C) inkubieren.
6. 1 Minute bei 1000 U/min (RCF 125 g) oder 20 Sekunden bei 3400 U/min (RCF1000 g) zentrifugieren.
7. Durch leichtes Aufschütteln über einer indirekten Lichtquelle die Zellen sorgfältig resuspendieren und makroskopisch auf Agglutination beobachten.

Test mit Anti-IgG, Anti-IgM, Anti-IgA

1. Die zu untersuchenden Erythrozyten drei mal mit physiologischer Kochsalzlösung waschen und den Überstand abgießen.
2. Eine 3-5%ige Suspension der gewaschenen Erythrozyten in isotonischer NaCl-Lösung herstellen.
3. Pro Ansatz 1 Tropfen Zellsuspension in ein sauberes Röhrchen geben.
4. 2 Tropfen des entsprechenden monospezifischen Coombsserums dazu geben.
5. Gut mischen und 5 Minuten bei Raumtemperatur (18–25 °C) inkubieren.
6. 1 Minute bei 1000 U/min (RCF 125 g) oder 20 Sekunden bei 3400 U/min (RCF1000 g) zentrifugieren.
7. Durch leichtes Aufschütteln über einer indirekten Lichtquelle die Zellen sorgfältig resuspendieren und makroskopisch auf Agglutination beobachten.

Monospecific Coombs Sera

English

B107403 10.13

INTRODUCTION

Monospecific Coombssera are designed for the identification of plasma-proteins on the cell surface. The plasma-proteins relevant in immunohematology are the immunglobulins IgG, IgM and occasionally IgA and the complement components C3 and C4.

A sensitization of red cells with these proteins implies a positive Coombs test when using a good polyspecific anti-human-globulin serum. The cause for a sensitization with such plasmaproteins may be: incomplete warm autoantibodies (warm agglutinines resp. warm hemolysins), antibodies of the Donath-Landsteiner type and cold agglutinines. The incomplete warm agglutinines belong to the IgG class. The incomplete warm hemolysins belong often to the IgM class. The Donath-Landsteiner antibodies belong to the IgG class, are however complete reacting antibodies. Cold agglutinines are, as a rule, complete reacting IgM antibodies and only occasionally incomplete IgG antibodies are observed. In very rare cases, cold agglutinines belonging to the IgG class are found.

If incomplete warm antibodies are present, a typical constellation is a positive Coombs test with a polyspecific anti-human-globulin serum and a monospecific anti-IgG Coombs serum. In some cases positive reactions are also found with monospecific anticomplement Coombs serum. If Donath-Landsteiner antibodies and cold agglutinines are present, a typical negative reaction with anti-IgG and a positive reaction with anti-C3 are found due to the fact that the antibodies are eliminated from the cell surface during the washing procedure, while only the complement components remain on the surface, fixed by the antigen-antibody complex to the surface.

By differentiation of a positive Coombs test with the monospecific Coombssera anti-IgG and anti-C3, rapid indications are obtained as to the type of autoantibody present. The proper identification is made by a specificity test, the Donath-Landsteiner test resp. the cold agglutinine test.

The monospecific Coombssera are prepared by immunization of animals with purified plasma-protein components. Their heavy chain-specificity is achieved by different absorption procedures.

The anti-C3 serum contains antibodies against the C3 components C3b and the component C3d (alpha2d). The antibody specificity is determined by several test procedures. The serum is free of any anti-immunglobulin specificity. The specificity and activity are verified with the hemagglutination test, analogous to the test for which the monospecific Coombssera are designed.

The monospecific Coombssera anti-IgM and anti-IgA are used to clear up cases which could not be identified with anti-IgG and anti-C3.

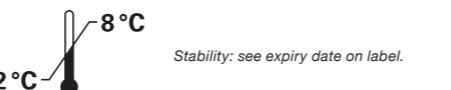
All monospecific Coombssera as well as the polyspecific anti-Humanglobulinserum are free of antibodies of the anti-T specificity.

REAGENTS



Anti-IgG (γ-chain), Anti IgM (μ-chain), Anti-IgA (α-chain), Anti-C3, Anti-C4, DiaClon Anti-C3d, monoclonal (cell line: C139-9). Ready for use, do not dilute!

Preservative: < 0,1% NaN₃.



Stability: see expiry date on label.

ADDITIONAL REAGENTS REQUIRED

- Isotonic saline solution 0.9% for red cell suspension.

FURTHER MATERIALS REQUIRED

- Suspension tubes
- Tube rack
- Pipette
- Immunohematological centrifuge

SAMPLE MATERIAL

For optimal results, the determination should be performed using a freshly drawn sample, or in accordance with local laboratory procedures for sample acceptance criteria. Preferably, blood samples should be drawn into citrate, EDTA or CPD-A anticoagulant. Samples drawn into plain tubes (no anticoagulant) may also be used. When the use of serum instead of plasma is required, the serum must be well cleared, by centrifugation at 1500 g for 10 minutes, before use avoid fibrin residues, which may interfere with the reaction pattern.

TEST PROCEDURES

Important: Monospecific Coombssera Anti-IgM and Anti-IgA are to be used in a serie of dilutions to eliminate the prozone phenomenon.

Test with Anti-C3, DiaClon Anti-C3d, Anti-C4

1. Wash red cells 3 times with physiological saline solution and decant the supernatant.
2. Prepare a 3-5% suspension of the washed red cells in isotonic saline solution.
3. For each test, pipette 1 drop of the cell suspension into a clean tube.
4. Add 1 drop of the respective monospecific serum.
5. Mix well and incubate for 5 minutes at room temperature (18–25 °C).
6. Centrifuge 1 minute at 1000 rpm (RCF 125 g) or 20 seconds at 3400 rpm (RCF 1000 g).
7. Carefully resuspend the cells over an indirect light source and observe macroscopically for agglutination

Test with Anti-IgG, Anti-IgM, Anti-IgA

1. Wash red cells 3 times with physiological saline solution and decant the supernatant.
2. Prepare a 3-5% suspension of the washed red cells in isotonic saline solution.
3. For each test, pipette 1 drop of the cell suspension into a clean tube.
4. Add 2 drop of the respective monospecific Coombsserum.
5. Mix well and incubate for 5 minutes at room temperature (18–25 °C).
6. Centrifuge 1 minute at 1000 rpm (RCF 125 g) or 20 seconds at 3400 rpm (RCF 1000 g).
7. Carefully resuspend the cells over an indirect light source and observe macroscopically for agglutination

Sérum de Coombs monospécifiques

French

INTRODUCTION

Les séums de Coombs monospécifiques servent à l'identification des protéines plasmatiques situées à la surface des hématies. En immunohématologie sont intéressantes en particulier les immunoglobulines IgG, IgM et IgA et les fractions du complément C3 et C4.

Un test de Coombs positif, effectué avec une bonne antiglobuline humaine polyvalente, démontre une sensibilisation des hématies avec ces protéines. Cette sensibilisation peut être due aux causes suivantes : des auto-anticorps chauds incomplets (agglutinines chaudes resp. hémolysines chaudes), des anticorps du type Donath-Landsteiner et des agglutinines froides. Les agglutinines chaudes incomplètes font partie de la classe IgG. Les hémolysines chaudes incomplètes appartiennent souvent à la classe IgM. Les anticorps Donath-Landsteiner appartiennent à la classe IgM et sont cependant des anticorps complets. Les agglutinines froides sont en général des anticorps IgM complets. On a rarement trouvé des anticorps IgG incomplets. Dans de très rares cas on a trouvé des agglutinines froides IgA.

En cas de présence d'anticorps chauds incomplets, le résultat type est le suivant : test de Coombs positif avec une antiglobuline humaine polyvalente et un sérum monospécifique anti-IgG. Dans quelques cas, on trouve également des réactions positives avec le sérum anticomplément IgG et une réaction négative caractéristique avec le sérum monospécifique anti-C3, ceci est dû au fait que lors du lavage des hématies, les anticorps sont éliminés de la surface des hématies. Seul le C3 reste à la surface, fixé par le complexe antigène-anticorps.

Un test de Coombs positif avec les séums monospécifiques anti-IgG et anti-C3 permet d'avoir une indication rapide sur le type d'autoanticorps présent. L'identification complète se fait ensuite par l'étude de la spécificité, c'est-à-dire le test Donath-Landsteiner resp. le test des agglutinines froides.

Les séums de Coombs monospécifiques sont préparés par l'immunisation des animaux avec des fractions purifiées de protéines plasmatiques. Leur spécificité humaine aux chaînes lourdes est obtenue grâce à différents procédés d'absorption.

Le sérum anti-C3 contient des anticorps contre les fractions C3b et C3d (alpha2d). La spécificité et l'activité sont démontrées par les tests d'hémagglutination, analogues au test pour lequel les séums monospécifiques sont destinés.

Les séums de Coombs monospécifiques anti-IgM et anti-IgA servent à des examens ultérieurs des cas qui n'ont pas pu être résolus avec anti-IgG et anti-C3.

Tous les séums de Coombs monospécifiques anti-IgM et anti-IgA sont exemptes d'anticorps de spécificité anti-T.

RÉACTIFS



Anti-IgG (γ-chaine), Anti-IgM (μ-chaine), Anti-IgA (α-chaine), Anti-C3, Anti-C4, DiaClon Anti-C3d, monoclonal (ligne cellulaire : C139-9). Prêt à l'emploi, ne diluer pas !

Conserveur : < 0,1% NaN₃.



Stabilité : voir la date de péremption sur l'étiquette.

RÉACTIFS SUPPLÉMENTAIRES NÉCESSAIRES

- Solution saline isotonique 0,9% pour suspensions d'hématies.

MATÉRIAUX SUPPLÉMENTAIRES NÉCESSAIRES

- Tubes pour suspensions
- Portoir de tubes
- Pipette
- Centrifuge immunohématologique

ÉCHANTILLONS

Afin d'obtenir des résultats fiables, la détermination devrait se faire sur du matériel fraîchement prélevé ou conforme aux exigences du laboratoire auquel la demande d'analyses est adressée. L'échantillon devrait être prélevé de préférence sur anticoagulant citrate, EDTA ou CPD-A. Du sang prélevé sans anticoagulant (natif) peut également être utilisé. Lorsque l'utilisation de sérum est préférable à celle de plasma, le sérum doit être obtenu par centrifugation à 1500 g pendant 10 minutes pour éviter des résidus de fibrine qui pourraient interférer avec la réaction.

MÉTHODES

Important : Les séums anti-IgM et anti-IgA sont à utiliser dans une série de dilution pour éliminer un phénomène de prozone.

Test avec Anti-C3, DiaClon Anti-C3d, Anti-C4

1. Laver les hématies 3 fois avec une solution physiologique et décanter le surnageant.
2. Préparer une suspension d'hématies lavées de 3-5% en solution physiologique.
3. Pipette 1 goutte de la suspension dans un tube propre.
4. Ajouter 1 goutte du sérum monospécifique correspondant.
5. Bien mélanger et incuber 5 minutes à température ambiante (18–25 °C).
6. Centrifuger 1 minute à 1000 rpm (RCF 125 g) ou 20 secondes à 3400 rpm (RCF 1000 g).
7. Resuspendre doucement les hématies et observer l'agglutination macroscopique au-dessus d'un éclairage indirect.

Test avec Anti-IgG, Anti-IgM,

Sérums de Coombs monospécifiques

Français

B107403 10.13

REMARQUE

Un examen avec des sérums de Coombs monospécifique peut fournir des indications sur la signification clinique des anticorps dans le domaine transfusionnel, comme par exemple la fixation de compléments et les classes des immunoglobulines. Ces examens se font avec le test indirect à l'antiglobuline.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Principe

- Positive : Agglutination de \pm à +++, indiquant une réaction entre l'agh et hématies.
Négative : Absence d'agglutination visible, indiquant l'absence de réaction entre l'agh et hématies.

LIMITES

- a) Des contaminations, bactériennes ou autres, du matériel utilisé peuvent provoquer des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.
b) Des faux résultats faibles positifs ou négatifs peuvent être observés à cause de protéines encore présentes suite à une procédure de lavage insuffisante neutralisant partiellement ou complètement l'antiglobuline humaine.
c) L'observation stricte des méthodes et l'emploi de l'équipement recommandé sont essentiels. L'équipement doit être régulièrement contrôlé selon les procédures des BPL.
d) Des suspensions d'hématies trop concentrées ou trop diluées peuvent provoquer des résultats aberrants.

BIBLIOGRAPHIE

1. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R. Lancet 1945; 2:15
2. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R.: Brit J. Exp. Path. 1945; 26: 255
3. Technical Manual; R. H. Walker (ed); 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.

PRODUITS

| | |
|--|---------------------------|
| Anti-IgG rabbit (Id-n° : 14910) | 1 x 2 ml REF 107302 |
| Anti-IgM rabbit (Id-n° : 14960) | 1 x 2 ml REF 107422 |
| Anti-IgA rabbit (Id-n° : 14900) | 1 x 2 ml REF 107502 |
| Anti-C3 rabbit (Id-n° : 14930) | 1 x 2 ml REF 107602 |
| DiaClon-Anti-C3d monoclonal (Id-n° : 14940) | 1 x 2 ml REF 107852 |
| Anti-C4 rabbit (Id-n° : 14950) | 1 x 2 ml REF 107702 |

Ces produits sont garantis quant à leurs propriétés et qualités stipulées sur l'étiquette et dans le mode opératoire. Le fabricant décline toute responsabilité pour les cas où ces produits seraient employés ou vendus à d'autres usages.

Les modifications apportées à la version 06.12 sont colorées en gris.



Monospecific Coombs Sera

English

B107403 10.13

REMARK

The use of monospecific Coombssera in bloodtransfusion cases for the identification of antibodies may provide indications as to their clinical relevance, i.e. complement binding or Immunoglobulin classes. Respective tests are carried out with the indirect antiglobulin-test.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

Principle

- Positive: Agglutination of \pm to +++ is indicative of a reaction between the AHG and the red blood cells.
Negative: No visible agglutination is indicative of no reaction between the AHG and the red blood cells.

LIMITATIONS

- a) Bacterial or other contamination of materials used can cause false positive or false negative results.
b) False weak positive or negative results can occur due to residual proteins remaining after a poor wash procedure, partially or completely neutralising the AHG.
c) Strict adherence to the procedures and recommended equipment is essential. The equipment should be checked regularly according to GLP procedures.
d) Too heavy or too weak red cell suspensions can cause aberrant results.

BIBLIOGRAPHY

1. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R. Lancet 1945; 2:15
2. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R.: Brit J. Exp. Path. 1945; 26: 255
3. Technical Manual; R. H. Walker (ed); 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.

PRODUCTS

| | |
|---|---------------------------|
| Anti-IgG rabbit (Id-n°: 14910) | 1 x 2 ml REF 107302 |
| Anti-IgM rabbit (Id-n°: 14960) | 1 x 2 ml REF 107422 |
| Anti-IgA rabbit (Id-n°: 14900) | 1 x 2 ml REF 107502 |
| Anti-C3 rabbit (Id-n°: 14930) | 1 x 2 ml REF 107602 |
| DiaClon-Anti-C3d monoclonal (Id-n°: 14940) | 1 x 2 ml REF 107852 |
| Anti-C4 rabbit (Id-n°: 14950) | 1 x 2 ml REF 107702 |

These products are guaranteed to perform as described on the label and in the instruction sheet. The manufacturer declines all responsibility arising out of the use or sale of these products in any way or for any purpose other than those described therein.

Changes to the version 06.12 are shaded grey.



Monospezifische Coombs-Seren

Deutsch

B107403 10.13

BEMERKUNG

Eine Untersuchung mit monospezifischen Coombsseren kann bei der Abklärung von Antikörpern vor Bluttransfusionen Hinweise auf die klinische Relevanz, z.B. Komplement-Bindung oder Immunglobulin-Klasse, geben. Ausführung mit indirektem Antikörper.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Prinzip

- Positiv: Agglutination von \pm bis +++ deutet auf eine Reaktion zwischen dem AHG und den Erythrozyten an.
Negativ: Keine sichtbare Agglutination deutet keine Reaktion zwischen dem AHG und den Erythrozyten an.

EINSCHRÄNKUNGEN

- a) Bakterielle oder andere Kontaminationen des verwendeten Materials können falsch positive oder falsch negative Ergebnisse verursachen.
b) Falsche schwach positive oder negative Ergebnisse können durch Proteinrückstände nach mangelhaftem Waschen durch teilweise oder komplett neutralisiertes AHG verursacht werden.
c) Striktes Befolgen der Anleitungen und Verwendung des erforderlichen Arbeitsmaterials sind unerlässlich. Das Arbeitsmaterial sollte regelmäßig entsprechend den GLP-Richtlinien überprüft werden.
d) Zu starke oder zu schwache Erythrozytensusensionen können abnormale Reaktionen hervorrufen.

LITERATUR

1. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R. Lancet 1945; 2:15
2. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R.: Brit J. Exp. Path. 1945; 26: 255
3. Technical Manual; R. H. Walker (ed); 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.

PRODUKTE

| | |
|---|---------------------------|
| Anti-IgG rabbit (Id-n°: 14910) | 1 x 2 ml REF 107302 |
| Anti-IgM rabbit (Id-n°: 14960) | 1 x 2 ml REF 107422 |
| Anti-IgA rabbit (Id-n°: 14900) | 1 x 2 ml REF 107502 |
| Anti-C3 rabbit (Id-n°: 14930) | 1 x 2 ml REF 107602 |
| DiaClon-Anti-C3d monoclonal (Id-n°: 14940) | 1 x 2 ml REF 107852 |
| Anti-C4 rabbit (Id-n°: 14950) | 1 x 2 ml REF 107702 |

Für diese Produkte wird nur Garantie übernommen, wenn sie gemäß den Angaben auf dem Etikett und der Anwendungsvorschrift verwendet werden. Jegliche Verantwortung wird ausdrücklich abgelehnt, wenn das Präparat für andere Zwecke gebraucht oder verkauft wird.

Änderungen zu der Version 06.12 sind grau gekennzeichnet.



Sieri di Coombs monospecifici

Italiano

B107403 10.13

INTRODUZIONE

I sieri di Coombs monospecifici sono realizzati per consentire la rilevazione di proteine plasmatiche sulla superficie delle emazie. Le proteine plasmatiche clinicamente significative in immunoematologia sono le immunoglobuline IgG, IgM e occasionalmente IgA, e le frazioni del complemento C3 e C4.

Emazie sensibilizzate con queste proteine danno luogo a un test di Coombs positivo, se si utilizza un buon siero all'antiglobulina umana polispecifico. Le cause di una sensibilizzazione con queste proteine plasmatiche possono essere: autoanticorpi caldi incompleti (agglutinine calde o emolissime calde), anticorpi del tipo Donath-Landsteiner e agglutinine fredde. Le agglutinine calde incomplete appartengono alla classe IgG e sono rilevabili sulla superficie delle emazie come molecole IgG. Le emolissime calde incomplete appartengono spesso alla classe IgM. Gli anticorpi di Donath-Landsteiner appartengono alla classe IgG, ma sono anticorpi a reazione completa. Le agglutinine fredde sono, di norma, anticorpi IgM a reazione completa e solo occasionalmente si osservano anticorpi IgG incompleti. In casi molto rari si individuano agglutinine fredde appartenenti alla classe IgA.

Se sono presenti anticorpi caldi incompleti, si ottiene di norma un test di Coombs positivo con siero all'antiglobulina umana polispecifico e con siero di Coombs anti-IgG monospecifico. In alcuni casi si ottengono reazioni positive anche con siero di Coombs anticomplemento monospecifico. Se sono presenti anticorpi di Donath-Landsteiner e agglutinine fredde, si rileva una tipica reazione negativa con anti-IgG e una tipica reazione positiva con anti-C3, perché gli anticorpi vengono eliminati dalla superficie delle emazie durante il processo di lavaggio, mentre rimangono sulla superficie solo le frazioni del complemento, perché fissate alla superficie stessa dal complesso antigeno-anticorpo.

Differenziando un test di Coombs positivo con i sieri di Coombs monospecifici anti-IgG e anti-C3, si ottengono rapide indicazioni sul tipo di autoanticorpo presente. Una corretta identificazione si ottiene mediante un test di specificità, il test di Donath-Landsteiner o il test per le agglutinine fredde.

I sieri di Coombs monospecifici vengono preparati immunizzando gli animali con componenti proteiche plasmatiche purificate. La rispettiva specificità per le catene pesanti si ottiene mediante diverse procedure di assorbimento.

Il siero anti-C3 contiene anticorpi diretti contro le frazioni C3b e la frazione C3d (alpha2d) del complemento C3. La specificità degli anticorpi si determina mediante diverse procedure di analisi. Il siero è privo di qualsiasi specificità all'antiglobulina umana. La specificità è l'attività vengono accertate con il test di emoagglutinazione, che è analogo al test per cui sono previsti i sieri di Coombs monospecifici.

I sieri di Coombs monospecifici anti-IgM e anti-IgA vengono impiegati per chiarire i casi che non sono stati identificati con gli anti-IgG e anti-C3.

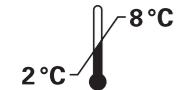
Come il siero all'antiglobulina umana polispecifico, tutti i sieri di Coombs monospecifici sono privi di anticorpi con specificità anti-T.

REAGENTI



Anti-IgG (catena γ), anti-IgM (catena μ), anti-IgA (catena α), anti-C3, anti-C4, DiaClon anti-C3d, monoclonale (linea cellulare: C139-9).
Pronti all'uso, non diluisci!

Conservante: < 0,1% NaN₃.



Stabilità: vedere la data di scadenza sull'etichetta.

ALTRI REAGENTI OCCorrenti

- Soluzione salina isotonica allo 0,9% per la preparazione di sospensioni di emazie.

ALTRI MATERIALI OCCorrenti

- Provette per sospensione
- Porta provette
- Pipetta
- Centrifuga per immunoematologia

CAMPIONI

Per ottenere risultati attendibili, si consiglia di eseguire la determinazione su un campione fresco o conforme alle procedure del laboratorio per i criteri di accettazione dei campioni. I campioni devono essere prelevati preferibilmente in citrato, EDTA o CPD-A. Si possono comunque usare anche campioni prelevati in provette normali (senza anticoagulante). Se si richiede l'uso di siero invece che di plasma, il siero deve essere ben chiarificato mediante centrifugazione a 1500 g per 10 minuti prima dell'uso per evitare ogni residuo di fibrina che possa interferire con il pattern di reazione.

PROCEDURA

Avvertenza importante: I sieri di Coombs monospecifici anti-IgM e anti-IgA devono essere utilizzati in una serie di diluizioni per eliminare il fenomeno di prozona.

Test con anti-C3, DiaClon anti-C3d, anti-C4

1. Lavare le emazie 3 volte con soluzione fisiologica, quindi decantare il supernatante.
2. Preparare una sospensione al 3-5% di eritrociti lavati in soluzione salina isotonica.
3. Pipettare per ogni test 1 goccia della sospensione di eritrociti in una provetta pulita.
4. Aggiungere 1 goccia del rispettivo siero monospecifico.
5. Mescolare bene e incubare per 5 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
6. Centrifugare per 1 minuto a 1000 giri/min. (RCF 125 g) o per 20 secondi a 3400 giri/min. (RCF 1000 g).
7. Rispondere delicatamente le emazie e osservare macroscopicamente l'eventuale agglutinazione su una fonte luminosa indiretta.

Test con anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA

1. Lavare le emazie 3 volte con soluzione fisiologica, quindi decantare il supernatante.
2. Preparare una sospensione al 3-5% di emazie lavate in soluzione salina isotonica.
3. Pipettare per ogni test 1 goccia della sospensione di emazie in una provetta pulita.
4. Aggiungere 2 gocce del rispettivo siero di Coombs monospecifico.
5. Mescolare bene e incubare per 5 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
6. Centrifugare per 1 minuto a 1000 giri/min. (RCF 125 g) o per 20 secondi a 3400 giri/min. (RCF 1000 g).
7. Rispondere delicatamente le emazie e osservare macroscopicamente l'eventuale agglutinazione su una fonte luminosa indiretta.

Sueros de Coombs monoespecíficos

Español

B107403 10.13

INTRODUCCIÓN

Los sueros de Coombs monoestípicos son útiles para la identificación de proteínas plasmáticas en la superficie celular. En inmunohematología interesan particularmente las immunoglobulinas IgG, IgM y ocasionalmente IgA, así como los componentes del complemento C3 y C4.

Emazies sensibilizadas con estas proteínas implican un resultado positivo en la prueba de Coombs, si se utiliza un suero adecuado de anti-globulina humana poliespecífico (AGH). La sensibilización eritrocitaria con estas proteínas plasmáticas pueden deberse a: autoanticorpos calientes incompletos (agglutininas calientes o emolissinas calientes), anticorpos de tipo Donath-Landsteiner y agglutininas frías. Las agglutininas calientes incompletas son de clase IgG. Las hemolisis calientes incompletas a menudo son también de clase IgM. Los anticorpos de tipo Donath-Landsteiner pertenecen a la clase IgG, pero son anticorpos completos. Por regla general, las agglutininas frías son anticorpos IgM completos, y sólo ocasionalmente se observan anticorpos IgG incompletos. En casos muy raros se observan agglutininas frías de la clase IgA.

Si existen anticorpos calientes incompletos, es habitual obtener un resultado positivo en la prueba de Coombs con un suero AGH poliespecífico y con un suero de Coombs monoestípico anti-IgG. En algunos casos también se registran reacciones positivas con suero Coombs monoestípico anti-complemento. Si están presentes anticorpos de tipo Donath-Landsteiner y agglutininas frías, se observa típicamente una reacción negativa con anti-IgG y positiva con anti-C3, debido a que los anticorpos se eliminan de la superficie celular durante el lavado, y solo permanecen en la superficie los componentes del complemento, fijados por el complejo antígeno-anticorpo.

Los distintos resultados diferenciales obtenidos en la prueba de Coombs con los sueros Coombs monoestípicos anti-IgG y anti-C3 indicarán el tipo de autoanticorpo implicado. La identificación correcta se realiza mediante pruebas de especificidad tales como la prueba de Donath-Landsteiner o la prueba de las agglutininas frías o criagglutininas.

Los sueros Coombs monoestípicos se elaboran por inmunización de animales con componentes purificados de proteínas plasmáticas. Su especificidad para cadenas de elevado peso molecular se logra mediante diferentes técnicas de absorción.

El suero anti-C3 contiene anticuerpos contra los componentes de C3 C3b y el componente C3d (alfa2d). La especificidad de los anticuerpos se determina mediante diversas técnicas de prueba. El suero carece de cualquier especificidad contra immunoglobulinas. La especificidad y la actividad se verifican mediante la prueba de hemoaglutinación, de forma análoga a la prueba para la que están diseñados los sueros Coombs monoestípicos.

Los sueros Coombs monoestípicos anti-IgM y anti-IgA se emplean para dilucidar los casos que no hayan podido identificarse con anti-IgG y anti-C3.

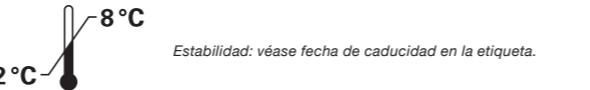
Todos los sueros Coombs monoestípicos, así como el suero AGH poliespecífico, carecen de anticuerpos con especificidad anti-T.

REACTIVOS



Anti-IgG (cadena γ), Anti IgM (cadena μ), Anti-IgA (cadena α), Anti-C3, Anti-C4, DiaClon Anti-C3d, monoclonal (línea celular: C139-9).
Listos para usar, no diluir!

Conservante: < 0,1% NaN₃.



Estabilidad: véase fecha de caducidad en la etiqueta.

REACTIVOS ADICIONALES NECESARIOS

- Solución salina isotónica al 0,9% para suspensión de eritrocitos.

OTROS MATERIALES NECESARIOS

- Tubos de suspensión
- Gradilla para tubos
- Pipeta
- Centrifuga imunohematológica

MUESTRAS

Para un resultado óptimo, la determinación debe realizarse con una muestra recién extraída, o cumpliendo la normativa local del laboratorio en cuanto a criterios de aceptabilidad de las muestras. Preferiblemente, las muestras de sangre deben recogerse utilizando citrato, EDTA o CPD-A como anticoagulante. También es posible utilizar muestras recogidas en tubos sin anticoagulante. Cuando sea necesario emplear suero en vez de plasma, el suero debe someterse a una centrifugación a 1500 g durante 10 minutos antes de su uso, para evitar la presencia de residuos de fibrina que podrían interferir con el patrón de reacción.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Importante: Los sueros de Coombs monoestípicos anti-IgM y anti-IgA deben utilizarse en diluciones seriadas para eliminar el fenómeno de prozona.

Prueba con Anti-C3, DiaClon Anti-C3d, Anti-C4

1. Lave los eritrocitos 3 veces con solución salina fisiológica y decante el sobrenadante.
2. Prepare una suspensión al 3-5% de los eritrocitos lavados en solución salina isotónica.
3. Para cada prueba, pipeteé 1 gota de la suspensión de eritrocitos en un tubo limpio.
4. Añada 1 gota del correspondiente suero Coombs monoestípico.
5. Mezcle bien e incuba durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).
6. Centrifugue durante 1 minuto a 1000 rpm (RCF 125 g) o 20 segundos a 3400 rpm (RCF 1000 g).
7. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación.

Prueba con anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA

1. Lave los eritrocitos 3 veces con solución salina fisiológica y decante el sobrenadante.
2. Prepare una suspensión al 3-5% de los eritrocitos lavados en solución salina isotónica.
3. Para cada prueba, pipeteé 1 gota de la suspensión de eritrocitos en un tubo limpio.
4. Añada 2 gotas del correspondiente suero Coombs monoestípico.
5. Mezcle bien e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C)
6. Centrifugue durante 1 minuto a 1000 rpm (RCF 125 g) o 20 segundos a 3400 rpm (RCF 1000 g).
7. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación.

Soros de Coombs mono-específicos

Português

B107403 10.13

INTRODUÇÃO

Os soros mono-específicos de Coombs são concebidos para identificação de proteínas plasmáticas na superfície celular. As proteínas plasmáticas relevantes em imuno-hematologia são as immunoglobulinas IgG, IgM e ocasionalmente IgA, e os componentes do complemento C3 e C4.

A sensibilização de eritrócitos com estas proteínas implica um teste de Coombs positivo se for utilizado um bom soro poli-específico antíglobulina humana. A causa da sensibilização com essas proteínas plasmáticas pode ser: auto-anticorpos quentes, nomeadamente hemolisinas quentes), anticorpos de tipo Donath-Landsteiner e agglutininas frias. As agglutininas quentes incompletas pertencem à classe IgG. As hemolisinas quentes incompletas muitas vezes pertencem à classe IgM. Os anticorpos Donath-Landsteiner pertencem à classe IgG, mas são anticorpos completos. Por regra geral, as agglutininas frias são anticorpos IgM completos, e só ocasionalmente se observam anticorpos IgG incompletos. Em casos muito raros são detectadas agglutininas frias de classe IgA.

No caso de estarem presentes anticorpos quentes incompletos, uma constelação típica é um teste de Coombs positivo com um soro de antíglobulina humana poli-específico e um soro de Coombs mono-específico anti-IgG. Nalguns casos também se verificam reacções positivas com soro de Coombs anti-complemento. Se estão presentes anticorpos de tipo Donath-Landsteiner e agglutininas frias, observa-se uma reacção negativa com anti-IgG e positiva com anti-C3, devido ao facto de os anticorpos se eliminarem da superfície celular durante o lavado, e só permanecem na superfície os componentes do complemento, fixados pelo complexo antígeno-anticorpo.

Com a diferenciação de um teste de Coombs positivo com soros de Coombs mono-específicos anti-IgG e anti-C3, obtém-se indicações rápidas quanto ao tipo de auto-anticorpo presente. A identificação correcta é feita por um teste de especificidade, o teste de Donath-Landsteiner, nomeadamente o teste de agglutinina fria.

Os soros de Coombs mono-específicos são preparados por imunização de animais com componentes de proteínas plasmáticas purificados. A sua especificidade para cadeias pesadas é obtida por diferentes procedimentos de absorção.

O soro anti-C3 contém anticorpos contra os componentes de C3 C3b e o componente C3d (alfa2d). A especificidade dos anticorpos é determinada por vários procedimentos de teste. O soro é isento de qualquer especificidade anti-imunoglobulina. A especificidade e a atividade são verificadas com o teste de hemaglutinação, de forma análoga à prova para a qual são concebidos os soros de Coombs mono-específicos.

Os soros de Coombs mono-específicos anti-IgM e anti-IgA são utilizados para esclarecer casos não identificados com anti-IgG e anti-C3.

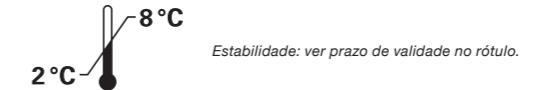
Todos os soros de Coombs mono-específicos, bem como o soro poli-específico antíglobulina humana, estão isentos de anticorpos com especificidade anti-T.

REAGENTES



Anti-IgG (cadeia-γ), Anti IgM (cadeia-μ), Anti-IgA (cadeia-α), Anti-C3, Anti-C4, DiaClon Anti-C3d, monoclonal (clone: C139-9).
Prontos a utilizar, não dilua!

Conservante: < 0,1% NaN₃.



Estabilidade: ver prazo de validade no rótulo.

REAGENTES ADICIONAIS NECESARIOS

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

OUTROS MATERIAIS NECESARIOS

- Tubos de suspensão
- Suporte tubos
- Pipeta
- Centrifuga de imunohematologia

AMOSTRAS

Para obtenção dos resultados ideais, a determinação deve ser realizada numa amostra recentemente colhida, ou em conformidade com os critérios de aceitação do procedimento laboratorial local. As amostras de sangue devem, de preferência, ser colhidas em anticoagulante citrato, EDTA ou CPD-A. Também é possível utilizar amostras colhidas em tubos limpos (sem anticoagulante). Sempre que for preferível utilizar soro em vez de plasma, o soro deve ser bem limpo por centrifugação a

Soros de Coombs mono-específicos

Português

B107403 10.13

OBSERVAÇÃO

A utilização de soros de Coombs mono-específicos para identificação de anticorpos em casos de transfusão de sangue pode fornecer indicações sobre a sua relevância clínica, ou seja, união do complemento ou classes de imunoglobulina. Os testes respetivos são realizados com o teste de anti-globulina indireta.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Princípio

Positivo: Uma aglutinação de \pm a ++++ é indicadora de reacção entre a AGH e os eritrócitos.

Negativo: Nenhuma aglutinação visível é indicadora de não reacção entre a AGH e os eritrócitos.

LIMITAÇÕES

- a) A contaminação, bacteriana ou outra, dos materiais utilizados pode causar resultados falsamente positivos ou falsamente negativos.
- b) Podem ocorrer resultados falsamente positivos fracos ou falsamente negativos devido a proteínas residuais que permanecem após mau procedimento de lavagem e que neutralizam parcial ou completamente a AGH.
- c) O cumprimento estrito dos procedimentos e a utilização do equipamento recomendado são essenciais. O equipamento deve ser regularmente verificado em conformidade com os procedimentos de BPL.
- d) Suspensões de eritrócitos demasiado concentradas ou demasiado diluídas podem provocar resultados errados.

BIBLIOGRAFIA

1. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R. Lancet 1945; 2:15
2. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R.: Brit J. Exp. Path. 1945; 26: 255
3. Technical Manual; R. H. Walker (ed); 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.

PRODUTOS

| | |
|--|---------------------------|
| Anti-IgG rabbit (Id-nº: 14910) | 1 x 2 ml REF 107302 |
| Anti-IgM rabbit (Id-nº: 14960) | 1 x 2 ml REF 107422 |
| Anti-IgA rabbit (Id-nº: 14900) | 1 x 2 ml REF 107502 |
| Anti-C3 rabbit (Id-nº: 14930) | 1 x 2 ml REF 107602 |
| DiaClon-Anti-C3d monoclonal (Id-nº: 14940) | 1 x 2 ml REF 107852 |
| Anti-C4 rabbit (Id-nº: 14950) | 1 x 2 ml REF 107702 |

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 alí descritos.

Sueros de Coombs monoespecíficos

Español

B107403 10.13

OBSERVACIÓN

El uso de sueros Coombs monoespecíficos para la identificación de anticuerpos en transfusión sanguínea puede proporcionar indicaciones sobre su significación clínica, p.ej. fijación del complemento o clases de inmunoglobulina. Este análisis se realiza con la determinación de la prueba de anti-globulina indirecta (PAI).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Principio

Positivo: Una aglutinación entre \pm y ++++ indica una reacción entre la AGH y los eritrócitos.

Negativo: La ausencia de aglutinación visible indica que no existe reacción entre la AGH y los eritrócitos.

LIMITACIONES

- a) La contaminación de los materiales empleados, bacteriana o de otro tipo, puede provocar reacciones falsamente positivas o falsamente negativas.
- b) Pueden producirse resultados falsamente negativos o falsamente débiles por la existencia de proteínas residuales (debidas a un procedimiento de lavado incorrecto) que neutralicen parcial o totalmente la AGH.
- c) Es esencial atenerse estrictamente a los procedimientos y equipos recomendados. El equipo debe comprobarse periódicamente según la normativa de prácticas de laboratorio correctas (GLP).
- d) Las suspensiones de eritrócitos demasiado concentradas o demasiado diluidas pueden dar lugar a resultados aberrantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R. Lancet 1945; 2:15
2. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R.: Brit J. Exp. Path. 1945; 26: 255
3. Technical Manual; R. H. Walker (ed); 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.

PRODUCTOS

| | |
|--|---------------------------|
| Anti-IgG rabbit (Id-nº: 14910) | 1 x 2 ml REF 107302 |
| Anti-IgM rabbit (Id-nº: 14960) | 1 x 2 ml REF 107422 |
| Anti-IgA rabbit (Id-nº: 14900) | 1 x 2 ml REF 107502 |
| Anti-C3 rabbit (Id-nº: 14930) | 1 x 2 ml REF 107602 |
| DiaClon-Anti-C3d monoclonal (Id-nº: 14940) | 1 x 2 ml REF 107852 |
| Anti-C4 rabbit (Id-nº: 14950) | 1 x 2 ml REF 107702 |

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.

Sieri di Coombs monospecifici

Italiano

B107403 10.13

NOTE

L'impiego di sieri di Coombs monospecifici per la rilevazione di anticorpi in casi di trasfusione può fornire indicazioni sulla rispettiva rilevanza clinica, ad es. legame del complemento o classi di immunoglobuliniche. Opportune analisi devono essere eseguite con il test indiretto per l'antiglobulina.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Principio

Positivo: L'agglutinazione da \pm a ++++ indica una reazione tra l'AGH e le emazie.

Negativo: L'assenza di agglutinazione visibile indica che non c'è stata reazione tra l'AGH e le emazie.

LIMITAZIONI

- a) Contaminazioni batteriche o di altro tipo del materiale utilizzato possono essere causa di risultati falsamente negativi o positivi.
- b) Possono verificarsi reazioni falsamente deboli o negative per la presenza di proteine residue dovute ad una impropria procedura di lavaggio, le quali possono neutralizzare parzialmente o completamente l'AGH.
- c) È indispensabile seguire scrupolosamente le istruzioni e impiegare il necessario materiale di lavoro. Il materiale di lavoro deve essere controllato regolarmente secondo le direttive GLP.
- d) Una sospensione di emazie troppo concentrata o troppo diluita può causare reazioni anomale.

BIBLIOGRAFIA

1. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R. Lancet 1945; 2:15
2. Coombs, R. R. A, Mourant, A. E et Race, R. R.: Brit J. Exp. Path. 1945; 26: 255
3. Technical Manual; R. H. Walker (ed); 11th ed. 1993; American Association of Blood Banks.

PRODOTTI

| | |
|--|---------------------------|
| Anti-IgG rabbit (Id-nº: 14910) | 1 x 2 ml REF 107302 |
| Anti-IgM rabbit (Id-nº: 14960) | 1 x 2 ml REF 107422 |
| Anti-IgA rabbit (Id-nº: 14900) | 1 x 2 ml REF 107502 |
| Anti-C3 rabbit (Id-nº: 14930) | 1 x 2 ml REF 107602 |
| DiaClon-Anti-C3d monoclonal (Id-nº: 14940) | 1 x 2 ml REF 107852 |
| Anti-C4 rabbit (Id-nº: 14950) | 1 x 2 ml REF 107702 |

Si garantiscono per questi prodotti le prestazioni descritte sull'etichetta e nel foglio di istruzioni. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'uso improprio o dalla vendita di questi prodotti per scopi diversi da quelli qui descritti.

Alterações para a versão 06.12 são sombreados cinza.

Cambios en la versión 06.12 están sombreadas en gris.

Le modifiche alla versione 06.12 sono evidenziate in grigio.

