

Peripneumonia Contagiosa dos bovinos (PPCB) - Teste de Fixação do Complemento

Princípios de Boas Práticas Laboratoriais

- O teste de Fixação do Complemento (FC) é um método sorológico usado para determinar a presença ou semi-quantificar anticorpos (Ac) numa amostra, utilizando a ação do Sistema do Complemento.
- O sistema complemento é um conjunto de proteínas séricas que tem por função ajudar na eliminação de microrganismos invasores. O teste de fixação do complemento tem como base a via clássica do Complemento, onde o complemento se liga ao sítio ativo formado pelo complexo antigénio-anticorpo. A ativação do sistema do complemento por anticorpos ligados a antigénios resulta na formação de complexos; se o anticorpo é ligado a antigénios adsorvidos nas hemácias, estas são destruídas, ocorrendo a hemólise.
- O teste de FC pode ser um teste qualitativo ou semi-quantitativo, quando é realizada uma diluição seriada da amostra, observando-se a máxima diluição onde ocorre reação positiva.
- Para validação do teste de FC, o controlo de qualidade e padronização de todos os reagentes é uma questão crítica. Assim, é importante a utilização de controlos apropriados, que deverão ser solicitados aos Laboratórios de Referência da OIE para a PPCB.
- As características de todos os reagentes utilizados devem ser levadas em consideração, pois têm impacto na interpretação do resultado do teste. É fundamental controlar a origem e datas de validade de todos os reagentes.
- A qualidade da água utilizada para diluição do tampão veronal deve ser controlada. Utilizar preferencialmente água ultrapura, com pH $6.5 \pm 0,2$, resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega/\text{cm}$ e condutividade máxima de $0,1 \text{ }\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25°C .
- Verificar temperatura da sala. Só iniciar o ensaio com temperatura entre os 18 e 26°C .
- Retirar do frigorífico as amostras e todos os reagentes a utilizar para o dia do ensaio (15 a 30 minutos antes), de forma a estarem à temperatura ambiente no início do teste.
- A inativação das amostras de soro serve para reduzir a contaminação bacteriana, destruir o complemento natural do próprio soro e reduzir a maior parte das IgMs Inespecíficas. A inativação deve ser realizada no próprio dia; se se repetir o ensaio dos mesmos soros no dia seguinte, estes devem ser inativados antes da prova durante apenas 10 minutos.
 - Soros diluídos – inativação a $58 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ durante 50 minutos
 - Soros por diluir – inativação a $60 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ durante 30 minutos