



MEZZO POTENZIANTE SIERIOLOGICO
ISTRUZIONI PER L'USO

LISS-ADD: per il potenziamento delle reazioni sierologiche.

RIEPILOGO

La riduzione della forza ionica di un sistema di test aumenta il tasso di legame antigene-anticorpo degli eritrociti. Low e Messeter nel 1974 hanno dimostrato che l'uso di una soluzione a bassa forza ionica aumenta il tasso di adesione degli anticorpi nella prima fase di agglutinazione, consentendo di ridurre i tempi di incubazione.

USO PREVISTO

LISS-ADD è una soluzione a bassa forza ionica destinata all'uso nella determinazione del gruppo sanguigno per le procedure di screening anticorpale e di cross-matching, se utilizzata secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Se utilizzata secondo le tecniche raccomandate, la soluzione riduce la forza ionica di un sistema di test, aumentando il tasso di legame antigene-anticorpo degli eritrociti e consentendo una sostanziale riduzione del tempo di incubazione e un aumento nella sensibilità del test con molte specificità anticorpali (vedere **Limitazioni**).

REAGENTE

Lorne LISS-ADD è una soluzione a bassa forza ionica contenente glicina, cloruro di sodio, tampone fosfato e albumina bovina. Il reagente non contiene né comprende sostanze CMR, o sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Il reagente viene fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate indicate di seguito senza la necessità di ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere **Etichetta della fiala**.

CONSERVAZIONE

Conservare le fiale di reagente a 2-8°C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata della reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità al trasporto a 37°C e -25°C come descritto nel documento BS EN ISO 23640:2015.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni di sangue possono essere raccolti in anticoagulanti EDTA, citrato, CPDA o come campione coagulato. Analizzare i campioni il prima possibile dopo aver effettuato la raccolta. In caso di ritardo nei test, conservare i campioni a 2-8°C. I campioni che presentano evidente emolisi o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per i test. I campioni di sangue che mostrano segni di lisi possono dare risultati non attendibili. È preferibile (ma non indispensabile) lavare tutti i campioni di sangue con tampone fosfato salino (PBS) o soluzione salina isotonica prima di analizzarli.

PRECAUZIONI

1. Il reagente è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
2. Se una fiala presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
3. Non usare il reagente dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
4. Non usare il reagente se è presente un precipitato.
5. Quando si maneggia il reagente, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
6. Il reagente è stato filtrato attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non viene fornito sterile. Dopo l'apertura di una fiala, il contenuto rimane vitale fino alla data di scadenza, a condizione che non vi sia una torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.
7. Il reagente contiene <0,1% di azoturo di sodio. L'azoturo di sodio può risultare tossico se ingerito e può reagire con le tubature in piombo o rame fino a formare azoturi metallici esplosivi. Per lo smaltimento sciacquare con grandi volumi di acqua.
8. Il contatto tra una soluzione LISS e candeggina provoca la corrosione accelerata di metalli comuni come rame e ferro. Occorre tenerlo presente se si considera l'uso della candeggina per la decontaminazione di tubature o apparecchi con parti metalliche che sono stati a contatto anche con soluzioni LISS.
9. Nessun test noto può garantire che i prodotti derivati da fonti animali siano privi di agenti infettivi. È necessario prestare attenzione durante l'uso e lo smaltimento di ciascuna fiala e del suo contenuto.

SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Per informazioni sullo smaltimento del reagente e sulla decontaminazione di un sito di fuoriuscita, vedere le **Schede di dati di sicurezza dei materiali**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E CONSIGLI

1. Si raccomanda di analizzare Lorne Precise Weak Anti-D e gli eritrociti appropriati (idealmente R_{1r} e rr) in parallelo con ogni lotto dei test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati previsti.
2. La tecnica dell'antiglobulina può essere considerata valida solo se tutti i test negativi reagiscono positivamente con gli eritrociti sensibilizzati con IgG.
3. La soluzione LISS, le sospensioni di eritrociti e i sieri per test devono essere a temperatura ambiente prima dell'uso per evitare di incorrere in reazioni positive indesiderate dovute ad anticorpi "freddi".
4. Nelle **Tecniche raccomandate** una goccia è di circa 50 µl se si usa la fiala contagocce fornita.
5. L'uso del reagente e l'interpretazione dei risultati devono essere eseguiti da personale adeguatamente formato e qualificato in conformità ai requisiti del paese in cui i reagenti sono in uso.
6. L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Antiglobuline umane ovvero Lorne AHG Elite (Cat # 435010 o 415010) o anti-IgG umani ovvero Lorne Anti-Human IgG (Cat # 401010 o 402010).
- Sistema di lavaggio per cellule Coombs.
- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Eritrociti sensibilizzati con IgG, ovvero Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Lorne Precise Weak Anti-D (Cat # 209005).
- Soluzione di PBS (pH 6.8-7.2) o soluzione salina isotonica (pH 6.5-7.5).
- Eritrociti di controllo positivo (idealmente R_{1r}) e negativo (rr).
- Pipette volumetriche.
- Bagno d'acqua o incubatore di calore a secco equilibrato a 37°C ± 2°C.

TECNICA RACCOMANDATA

1. Preparare una sospensione di eritrociti al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 2 volumi di siero per test, 1 volume di sospensione di eritrociti e 2 volumi di Lorne LISS-ADD.
3. Miscelare accuratamente e incubare a 37 °C per 15 minuti.
4. Lavare gli eritrociti 4 volte con PBS o soluzione salina isotonica, avendo cura di travasare la soluzione salina tra un lavaggio e l'altro e risospendere il sedimento dopo ogni lavaggio. Travasare completamente la soluzione salina dopo l'ultimo lavaggio.
5. Aggiungere 2 volumi di antiglobuline umane per ciascun sedimento secco.
6. Miscelare accuratamente e centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
7. Risospendere delicatamente le cellule e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

Interpretazione dei risultati del test

1. **Positivo:** L'agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato positivo del test.
2. **Negativo:** L'assenza di agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato negativo.

STABILITÀ DELLA REAZIONE

1. Effettuare la lettura dei test immediatamente dopo la centrifugazione. Eventuali ritardi possono dare origine alla dissociazione dei complessi antigene-anticorpo con conseguenti reazioni false negative o deboli positive.
2. Occorre prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati dei test effettuati a temperature diverse da quelle **raccomandate**.

LIMITAZIONI

1. Gli eritrociti con DAT positivo dovuto a un rivestimento di IgG non possono essere tipizzati mediante la tecnica dell'antiglobulina indiretta.
2. LISS-ADD non può essere utilizzata con eritrociti trattati con enzimi.
3. LISS-ADD non può essere utilizzata come mezzo di sospensione degli eritrociti.
4. Anti-A o Anti-B debolmente reattivi potrebbero non essere individuati utilizzando soluzioni potenzianti.
5. Alcuni anticorpi IgM che richiedono l'incubazione a temperatura ambiente potrebbero non essere reattivi alle condizioni indicate nelle procedure di test raccomandate.

6. Lo scostamento dal rapporto raccomandato tra siero, cellule e LISS-ADD potrebbe diminuire la sensibilità della procedura di test.
7. L'impiego di siero diluito in soluzione salina o di eluati realizzati in substrati invece di siero umano fresco produrranno una ionicità aumentata, influenzando pertanto sulla sensibilità del test.
8. Possono verificarsi risultati falsi positivi o falsi negativi dovuti a una tecnica errata o a materiali del test contaminati.
9. Non tutte le reazioni antigene-anticorpo sono potenziate da LISS-ADD.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

1. Prima del rilascio, ogni lotto di Lorne LISS-ADD ha dimostrato di potenziare le reazioni antigene-anticorpo se utilizzato secondo la **Tecnica raccomandata**.
2. La soluzione è conforme alle raccomandazioni contenute nell'edizione più recente delle Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito.

DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

1. L'utilizzatore è responsabile delle prestazioni del reagente con qualsiasi metodo diverso da quelli indicati nella **Tecnica raccomandata**.
2. Qualsiasi scostamento dalla **Tecnica raccomandata** deve essere approvato prima dell'uso¹⁰.

BIBLIOGRAFIA

1. Low B., Messeter L. Antiglobulin test in low ionic strength salt solution for rapid antibody screening and crossmatching. Vox. Sang. 1974; **26**. 53-61.
2. Moore C., Mollison P.L. Use of low ionic strength saline medium in manual tests for antibody detection. Transfusion 1976; **16**. 291-296.
3. Wicker B., Wallas C.H. A comparison of low ionic strength saline medium with routine methods for antibody detection. Transfusion 1976; **16**. 469-472.
4. Voak D., Downie D.M., Darnborough J., Haigh T.J., Fairham S.A. Low ionic strength media for rapid antibody detection: optimum conditions and quality control. Med. Lab. Sci. 1980; **37**. 107-118.
5. Haigh T.J., Fairham S.A. Advantages of low ionic strength saline (LISS) techniques in blood bank management. Med. Lab. Sci. 1980; **37**. 119-125.
6. Dynan P.K. Evaluation of commercially available low ionic strength salt (LISS) solutions. Med. Lab. Sci. 1981; **38**. 13-20.
7. Voak D., Downie M., Haigh T.J., Cook N. Improved antiglobulin tests to detect difficult antibodies: detection of Anti-Kell by LISS. Med. Lab. Sci. 1982; **39**. 363-370.
8. Phillips P.K., Bebbington C. The pH, conductivity and osmolality of low ionic strength solutions used within the U.K. for the antiglobulin test. Transfusion Medicine 1991; **1**. 155-158.
9. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
10. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, **5**, 145-150.

DIMENSIONI DEI REAGENTI DISPONIBILI

Dimensione fiala	Numero catalogo	Test per fiala
10 ml	480010	100
1000 ml	480000*	10.000

*Questa dimensione è esclusivamente per uso successivo (FFMU), e pertanto non è dotata di marchio CE.



Lorne Laboratories Limited
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
 Danehill
 Lower Earley
 Berkshire, RG6 4UT
 Regno Unito
 Tel: +44 (0) 118 921 2264
 Fax: +44 (0) 118 986 4518
 E-mail: info@lornelabs.com

EC	REP	Advena Ltd. Tower Business Centre, 2 nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
----	-----	---