

MEDIO POTENCIADOR PARA PRUEBAS SEROLÓGICAS
INSTRUCCIONES DE USO

LISS-ADD: Para potenciar reacciones serológicas

RESUMEN

Al disminuir la fuerza iónica de un sistema de reacción, se aumenta la tasa de unión antígeno-anticuerpo de los hematíes. En 1974, Low y Messeter demostraron que el uso de una solución de baja fuerza iónica mejora la tasa de absorción de anticuerpos en la primera etapa de la aglutinación, lo que permite acortar los tiempos de incubación.

USO PREVISTO

El LISS-ADD es una solución de baja fuerza iónica diseñada para su uso en la determinación de grupos sanguíneos mediante compatibilidad cruzada y procedimientos de detección de anticuerpos, cuando se utiliza de acuerdo con las técnicas recomendadas indicadas en estas instrucciones de uso.

PRINCIPIO

Cuando se utiliza según las técnicas recomendadas, la solución reduce la fuerza iónica de un sistema de reacción, aumenta la tasa de unión antígeno-anticuerpo de los hematíes y permite una reducción considerable del tiempo de incubación y un aumento en la sensibilidad de las pruebas con muchos anticuerpos específicos (ver las **Limitaciones**).

REACTIVO

El reactivo LISS-ADD de Lorne es una solución de baja fuerza iónica que contiene glicina, cloruro de sodio, solución amortiguadora con fosfato y albúmina bovina. El reactivo no contiene ni está compuesto de sustancias CMR, sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endocrino, o que podrían causar sensibilización o una reacción alérgica al usuario. El reactivo se suministra en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. Para obtener información sobre el número de referencia del lote y la fecha de caducidad, consulte la **etiqueta del vial**.

CONSERVACIÓN

Los viales de reactivo deben conservarse a 2-8 °C. El almacenamiento prolongado a temperaturas fuera de este rango puede acelerar la pérdida de reactividad. Este reactivo se ha sometido a estudios de estabilidad durante el traslado a 37 °C y -25 °C, según lo descrito en el documento BS EN ISO 23640:2015.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras pueden recogerse en anticoagulantes EDTA o como una muestra coagulada. Las muestras deben analizarse cuanto antes después de su recolección. Si el análisis va a retrasarse, la muestra debe conservarse a 2-8 °C. No deben analizarse las muestras que presenten una hemólisis macroscópica o contaminación microbiana. Las muestras de sangre que tengan evidencias de lisis pueden dar lugar a resultados no fiables. Es preferible (pero no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar el análisis.

PRECAUCIONES

1. El reactivo es solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Si el vial está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
3. No utilizar el reactivo caducado (ver la **etiqueta del vial**).
4. No utilizar el reactivo si presenta precipitado.
5. La manipulación del reactivo debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
6. El reactivo ha sido filtrado a través de cápsulas de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministra esterilizado. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez, lo que podría indicar un deterioro o contaminación del reactivo.
7. El reactivo contiene <0,1 % de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con el cobre o plomo de las tuberías y formar azidas metálicas explosivas. Al eliminar el producto, hacerlo con abundante agua.
8. El contacto con LISS junto con lejía provoca corrosión acelerada de metales base como el cobre y el hierro. Esto debe tenerse en cuenta al considerar el uso de lejía para descontaminar fontanería o aparatos con partes metálicas que también hayan estado en contacto con LISS.
9. Ninguna prueba conocida puede garantizar que los productos derivados de fuentes animales estén libres de agentes infecciosos. Se debe tener precaución en el uso y la eliminación de cada vial y su contenido.

ELIMINACIÓN DEL REACTIVO Y CÓMO ACTUAR EN CASO DE DERRAME

Para obtener información sobre la eliminación del reactivo y la descontaminación del lugar del derrame, consulte las **Hojas de datos de seguridad de los materiales**, disponibles previa solicitud.

CONTROLES Y CONSEJOS

1. Lorne Precise Weak Anti-D y los hematíes apropiados (idealmente R_{1r} y rr) deberían analizarse en paralelo con cada lote de pruebas. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
2. Las técnicas de antiglobulina solo pueden considerarse válidas si todas las pruebas negativas reaccionan de manera positiva con hematíes sensibilizados con IgG.
3. La solución LISS, las suspensiones de hematíes y los sueros de la prueba deben estar a temperatura ambiente antes de su uso para evitar obtener reacciones positivas no deseadas debido a anticuerpos fríos.
4. En las **Técnicas recomendadas**, una gota equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas del vial suministrado.
5. La utilización del reactivo y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde se estén utilizando los reactivos.
6. El usuario final debe determinar la idoneidad del reactivo para su uso en otras técnicas.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Globulina antihumana; es decir, Lorne AHG Elite (n.º de cat. 435010 o 415010) o IgG antihumana; es decir, Lorne Anti-Human IgG (n.º de cat. 401010 o 402010).
- Lavador de células de Coombs.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Hematíes sensibilizados con IgG; es decir, Lorne Coombs Control Cells (n.º de cat. 970010).
- Lorne Precise Weak Anti-D (n.º de cat. 209005).
- Solución tampón fosfato salino (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes para controles positivo (idealmente R_{1r}) y negativo (rr).
- Pipetas volumétricas.
- Baño de agua o incubadora de calor seco equilibrada a 37 °C ± 2 °C

TÉCNICA RECOMENDADA

1. Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en PBS o solución salina isotónica.
2. Añadir en un tubo etiquetado: 2 volúmenes de suero de prueba, 1 volumen de la suspensión de hematíes y 2 volúmenes de LISS-ADD de Lorne.
3. Mezclar minuciosamente e incubar a 37 °C durante 15 minutos.
4. Lavar los hematíes 4 veces con PBS o solución salina isotónica, teniendo cuidado de decantar la solución salina entre lavados y volver a suspender cada botón celular después de cada lavado. Decantar completamente la solución salina después del último lavado.
5. Añadir 2 volúmenes de globulina antihumana a cada botón celular seco.
6. Mezclar minuciosamente y centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
7. Volver a suspender cuidadosamente las células y comprobar si hay aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS

1. **Positivo:** La presencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado positivo.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los análisis se deben leer inmediatamente tras la centrifugación. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, lo que provoca resultados falsos negativos o positivos débiles.
2. Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Los hematíes que tengan un resultado positivo en la DAT debido a un recubrimiento de IgG no se pueden tipificar mediante la técnica de antiglobulina indirecta.
2. El LISS-ADD no se puede utilizar con hematíes tratados con enzimas.
3. El LISS-ADD no se puede utilizar como medio de suspensión de hematíes.

- Es posible que los anticuerpos Anti-A o Anti-B con una baja reactividad no se detecten mediante el uso de soluciones potenciadoras.
- Algunos anticuerpos IgM que requieren incubación a temperatura ambiente podrían no ser reactivos bajo las condiciones del procedimiento de análisis recomendado.
- Desviarse de la proporción recomendada de suero, células y LISS-ADD podría disminuir la sensibilidad de la prueba.
- El uso de suero diluido en solución salina o de eluyentes elaborados en sustratos distintos al suero humano fresco, conllevará un aumento de la ionicidad y, por lo tanto, afectará la sensibilidad de la prueba.
- Es posible que se obtengan resultados falsos positivos o falsos negativos debido al uso de una técnica inapropiada o materiales de la prueba contaminados.
- No todas las reacciones antígeno-anticuerpo se pueden potenciar con LISS-ADD.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS

- Antes de su distribución, cada lote de LISS-ADD de Lorne ha demostrado potenciar muchas reacciones antígeno-anticuerpo cuando se utiliza según la **Técnica recomendada**.
- La solución cumple con las recomendaciones incluidas en la última versión de las Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido.

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

- El usuario final es responsable del funcionamiento del reactivo en cualquier otro método distinto del mencionado como **técnica recomendada**.
- Cualquier desviación de la **técnica recomendada** debe validarse antes de su uso¹⁰.

BIBLIOGRAFÍA

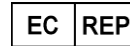
- Low B., Messeter L. Antiglobulin test in low ionic strength salt solution for rapid antibody screening and crossmatching. Vox. Sang. 1974; **26**. 53–61.
- Moore C., Mollison P.L. Use of low ionic strength saline medium in manual tests for antibody detection. Transfusion 1976; **16**. 291–296.
- Wicker B., Wallas C.H. A comparison of low ionic strength saline medium with routine methods for antibody detection. Transfusion 1976; **16**. 469–472.
- 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.
- 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.
- Dynan P.K. Evaluation of commercially available low ionic strength salt (LISS) solutions. Med. Lab. Sci. 1981; **38**. 13–20.
- 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.
- 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.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- 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.

TAMAÑOS DE REACTIVOS DISPONIBLES

Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
10 ml	480010	100



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Reino Unido
Tel: +44 (0) 118 921 2264
Fax: +44 (0) 118 986 4518
Correo electrónico: info@lornelabs.com



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

TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Fabricante		Número de catálogo
	Limitación de la temperatura		Utilizar antes del YYYY-MM-DD
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro		Consultar las instrucciones de uso
	Representante legal		Número de lote
	Símbolo CE		