

MEIO DE OTIMIZAÇÃO SEROLÓGICA INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

LISS-ADD: para potenciação de reações serológicas.

RESUMO

A redução da força iónica de um sistema de teste aumenta a taxa de ligação antigénio-anticorpo nas hemácias. Em 1974, Low e Messeter demonstraram que a utilização de uma solução de baixa força iónica otimiza a taxa de absorção de anticorpos na primeira fase de aglutinação, possibilitando a redução dos tempos de incubação.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

A solução LISS-ADD é uma solução de baixa força iónica que se destina a ser utilizada na determinação do grupo sanguíneo para procedimentos de rastreio de compatibilidade cruzada e anticorpos, quando utilizada em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

PRINCÍPIO

Quando utilizada empregando as técnicas recomendadas, a solução reduz a força iónica de um sistema de teste, aumenta a taxa de ligação antigénio-anticorpo em hemácias e permite uma redução substancial do tempo de incubação e um aumento da sensibilidade do teste com muitas especificidades dos anticorpos (consulte **Limitações**).

REAGENTE

A solução Lorne LISS-ADD é uma solução de baixa força iónica, que contém glicina, cloreto de sódio, tampão fosfato e albumina bovina. O reagente não contém nem consiste em substâncias cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução (CMR), substâncias passíveis de causarem a desregulação do sistema endócrino nem substâncias passíveis de causarem sensibilização ou uma reação alérgica no utilizador. O reagente é fornecido na diluição ideal para utilização com todas as técnicas recomendadas indicadas abaixo, sem necessidade de diluição ou acréscimo adicional. Para obter informações sobre o número de referência do lote e o prazo de validade, consulte o **rótulo do frasco**.

CONSERVAÇÃO

Após receção, os frascos de reagente devem ser conservados entre 2–8 °C. A conservação prolongada a temperaturas fora deste intervalo pode resultar em perda acelerada de reatividade do reagente. Este reagente foi submetido a estudos de estabilidade durante o transporte a 37 °C e –25 °C, conforme descrito no documento BS EN ISO 23640:2015.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de sangue podem ser colhidas em anticoagulantes EDTA, citrato e CPDA, ou como amostras coaguladas. As amostras devem ser testadas assim que possível após a colheita. Em caso de adiamento do teste, armazene as amostras a 2–8 °C. As amostras que apresentem hemólise visível ou contaminação microbiana não devem ser utilizadas para teste. As amostras de sangue que revelem evidências de lise podem apresentar resultados pouco fiáveis. É preferível (mas não essencial) lavar todas as amostras de sangue com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes de testá-las.

PRECAUÇÕES

1. O reagente destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Se um frasco estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
3. Não utilize o reagente após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
4. Não utilize o reagente se estiver presente precipitado.
5. Ao manusear o reagente deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
6. O reagente foi filtrado através de uma cápsula de 0,2 µm para reduzir a carga biológica, mas não é fornecido estéril. Quando um frasco é aberto, o conteúdo do mesmo deverá manter-se viável até ao fim do prazo de validade, desde que não exista turvação acentuada, a qual pode indicar deterioração ou contaminação do reagente.
7. O reagente contém <0,1% de azida de sódio. A azida de sódio pode ser tóxica se ingerida e pode reagir com tubagens de chumbo e cobre, formando azidas metálicas explosivas. Aquando da eliminação, enxague com grandes volumes de água.
8. O contacto com LISS juntamente com lixívia provoca a corrosão acelerada de metais comuns, como o cobre e o ferro. Isto deve ser tido em consideração ao ponderar a utilização de lixívia para descontaminação de canalizações ou aparelhos com partes metálicas que também tenham estado em contacto com LISS.
9. Nenhum teste conhecido pode garantir que os produtos de origem animal estão isentos de agentes infecciosos. Deve ter-se cuidado na utilização e eliminação de cada frasco e respetivo conteúdo.

ELIMINAÇÃO DO REAGENTE E CONTROLO DE DERRAMES

Para obter informações sobre a eliminação do reagente e a descontaminação de um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança**, disponível mediante pedido.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

1. Recomenda-se o teste de Lorne Precise Weak Anti-D e de hemácias apropriadas (idealmente R₁r e rr) em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
2. A técnica de antiglobulina apenas pode ser considerada válida se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas com IgG.
3. A solução LISS, as suspensões de hemácias e os soros de teste devem estar à temperatura ambiente antes da utilização, de modo a evitar reações positivas indesejáveis devidas a anticorpos "frios".
4. Nas **Técnicas recomendadas**, uma gota corresponde a cerca de 50 µl quando é utilizado o conta-gotas do frasco fornecido.
5. A utilização do reagente e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por profissionais qualificados e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde os reagentes são utilizados.
6. O utilizador tem de determinar a adequabilidade do reagente para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Globulina anti-humana, isto é, Lorne AHG Elite (número de catálogo: 435010 ou 415010) ou IgG anti-humana, ou seja, Lorne Anti-Human IgG (número de catálogo: 401010 ou 402010).
- Agente de lavagem de células de Coombs.
- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Hemácias sensibilizadas com IgG, ou seja, Lorne Coombs Control Cells (número de catálogo: 970010).
- Lorne Precise Weak Anti-D (número de catálogo: 209005).
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente R₁r) e controlo negativo (rr).
- Pipetas volumétricas.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco calibrada para 37 °C ± 2 °C.

TÉCNICA RECOMENDADA

1. Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica.
2. Coloque num tubo de teste rotulado: 2 volumes de soro de teste, 1 volume de suspensão de hemácias e 2 volumes de Lorne LISS-ADD.
3. Misture bem e incube a 37 °C durante 15 minutos.
4. Lave as hemácias 4 vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica, tendo o cuidado de decantar a solução salina entre lavagens e de ressuspender cada botão de células após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última lavagem.
5. Adicione 2 volumes de globulina anti-humana a cada botão de células secas.
6. Misture bem e, em seguida, centrifugue todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (força centrífuga relativa) ou utilizando um período de tempo e uma força alternativos adequados.
7. Com cuidado, proceda à ressuspensão das células e verifique a presença de aglutinação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

1. **Positivo:** a aglutinação de hemácias constitui um resultado de teste positivo.
2. **Negativo:** a não ocorrência de aglutinação de hemácias constitui um resultado negativo.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os testes devem ser lidos imediatamente após a centrifugação. Os atrasos podem resultar na dissociação de complexos antigénio-anticorpo, conduzindo a reações negativas falsas ou positivas fracas.
2. Deve ter-se precaução na interpretação dos resultados de testes realizados a temperaturas que não as recomendadas.

LIMITAÇÕES

1. Hemácias com um teste de antiglobulina direta (TAD) positivo devido a um revestimento de IgG não podem ser submetidas a tipagem pela técnica de antiglobulina indireta.

- A solução LISS-ADD não pode ser utilizada com hemácias tratadas com enzimas.
- A solução LISS-ADD não pode ser utilizada como meio para suspensão de hemácias.
- Anti-A ou anti-B fracamente reativos podem não ser detetados utilizando soluções potenciadoras.
- ALGUNS anticorpos IgM que requerem incubação à temperatura ambiente podem não ser reativos sob as condições do procedimento de teste recomendado.
- O desvio relativamente ao rácio recomendado de soro, células e LISS-ADD pode reduzir a sensibilidade do procedimento de teste.
- A utilização de soro diluído em solução salina, ou de eluatos transformados em substratos que não soro humano fresco, resultará em maior ionicidade e, conseqüentemente, afetará a sensibilidade do teste.
- Podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a técnica inadequada ou contaminação dos materiais de teste.
- Nem todas as reações antigénio-anticorpo são otimizadas pela solução LISS-ADD.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- Antes da libertação, cada lote da solução Lorne LISS-ADD demonstrou otimizar muitas reações antigénio-anticorpo quando utilizada empregando a **Técnica recomendada**.
- A solução cumpre as recomendações contidas na edição mais recente das "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" (Linhas de Orientação para os Serviços de Transfusão de Sangue no Reino Unido).

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

- O utilizador é responsável pelo desempenho do reagente quando utilizado em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnica recomendada**.
- Eventuais desvios relativamente à **Técnica recomendada** devem ser validados antes da utilização¹⁰.

BIBLIOGRAFIA

- 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.

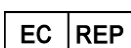
APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO REAGENTE

Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
10 ml	480010	100
1000 ml	480000*	10 000

*Esta apresentação é apenas para Utilização em Fabrico Posterior (FFMU, For Further Manufacturing Use), pelo que não possui a marca CE.



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
E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,