



MEZZO POTENZIANTE SIERIOLOGICO
ISTRUZIONI PER L'USO

PEG-ADD: per il potenziamento delle tecniche dell'antiglobulina indiretta

RIEPILOGO

E' ormai provato che la riduzione della forza ionica di un sistema di test aumenta il tasso di legame antigene-anticorpo nei test dell'antiglobulina indiretta. È inoltre possibile aumentare la sensibilità delle tecniche dell'antiglobulina indiretta con l'uso di glicole polietilenico (PEG) quale mezzo potenziante.

USO PREVISTO

PEG-ADD è un polimero ad elevato peso molecolare contenente una soluzione a bassa forza ionica destinato all'uso nella determinazione del gruppo sanguigno per le procedure di screening anticorpale e di cross-matching, se utilizzato secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Quando vengono aggiunti a una soluzione di immunoreagenti, i polimeri ad elevato peso molecolare spostano altre molecole, aumentando così la quantità di contatti tra antigeni e anticorpo. Quando il PEG si dissolve in una soluzione a bassa forza ionica, le proprietà di potenziamento di entrambi si combinano, così che è possibile aggiungerne un volume minore ad ogni test rispetto a quanto ne servirebbe sciogliendo il PEG in una soluzione salina a normale forza ionica.

REAGENTE

Lorne PEG-ADD è una soluzione a bassa forza ionica contenente glicina, tampone fosfato e glicole polietilenico. 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. 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 R₁r 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 PEG- ADD, 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. L'uso di antiglobulina umana polispecifica con Lorne PEG-ADD può provocare reazioni non specifiche.
5. Nelle **Tecniche raccomandate** una goccia è di circa 50 µl se si usa la fiala contagocce fornita.
6. 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.
7. L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Anti-IgG umane ovvero Lorne Anti-Human IgG (Cat # 402010 o 401010).
- 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 R₁r) 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 PEG-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. Rispondere 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. Lorne PEG-ADD non può essere utilizzato come mezzo di sospensione degli eritrociti.
3. Non tutte le reazioni antigene-anticorpo sono potenziate dall'uso di Lorne PEG-ADD con la tecnica con antiglobulina indiretta.
4. Gli eritrociti tendono ad aggregarsi in presenza di polimeri lineari, pertanto Lorne PEG-ADD può essere utilizzato esclusivamente in test con antiglobulina indiretta.
5. È possibile che gli anticorpi IgM non vengano rilevati con la tecnica dell'antiglobulina indiretta.
6. I risultati falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi anche a causa di:
 - Contaminazione dei materiali dei test
 - Errata concentrazione cellulare

- Tempo o temperatura di incubazione errati
- Errata o eccessiva centrifugazione
- Errata conservazione dei materiali dei test o omissione del reagente
- Scostamento dalle tecniche raccomandate

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

1. Prima del rilascio, ogni lotto di Lorne PEG-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'uso⁵.

BIBLIOGRAFIA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
2. B.Wenz, J.Apuzzo and D.P.Shah, Evaluation of the polyethylene glycol-potentiatiated indirect antiglobulin test, Transfusion 1990-Vol.30, No.4
3. R.S.Shirey, J.S.Boyd and P.M.Ness, Polyethylene glycol versus low-ionic-strength solution in pretransfusion testing: a blinded comparison study, Transfusion 1994-Vol.34, No.5
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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	485010	100
1000 ml	485000*	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 Fl., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
----	-----	--