



SZEROLÓGIAI FOKOZÓKÖZEG HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

LISS-ADD: szerológiai reakciók potencírozásához.

ÖSSZEFOGLALÁS

A vizsgálati rendszer ionerősségének csökkentése növeli a vörösvérsejtek antigén-antitest kötésének sebességét. Low és Messeter 1974-ben kimutatta, hogy egy alacsony ionerősségű oldat használata növeli az antitestfelvétel sebességét az agglutináció első szakaszában, lehetővé téve az inkubációs idő rövidítését.

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A LISS-ADD egy alacsony ionerősségű oldat, amely vércsoport-meghatározáskor a keresztpróba és antitestszűrési eljárásokban való használatra szolgál, a jelen használati útmutatóban ismertetett ajánlott módszerekkel vizsgálva.

ALAPELV

Az ajánlott módszerek alkalmazásával az oldat csökkenti a vizsgálati rendszer ionerősségét, növeli a vörösvérsejtek antigén-antitest kötési sebességét, és lehetővé teszi az inkubációs idő lényeges csökkentését és a vizsgálat szenzitivitásának növelését számos antitest-specifitással (lásd a **Korlátok** című részt).

REAGENS

A Lorne LISS-ADD egy alacsony ionerősségű oldat, amely glicint, nátrium-kloridot, foszfátpuffert és szarvasmarha albumint tartalmaz. A reagens nem tartalmaz CMR (rákkeltő, mutagén vagy reprodukciót károsító) anyagokat, endokrin rendszeret káros anyagokat, illetve olyan anyagokat, amelyek a felhasználónál szenzibilizációt vagy allergiás reakciót okozhatnak. A reagenst az alábbiakban ismertetett összes ajánlott módszerrel való használatához optimális hígításban szállítják, további hígítást vagy kiegészítést nem igényel. A tétel referenciaszámát és lejárati dátumát lásd az **üveg címkéjén**.

TÁROLÁS

A reagensüvegeket a kézhezvételüket követően 2–8 °C-on kell tárolni. A megadott hőmérséklet-tartományon kívüli, hosszabb ideig történő tárolás felgyorsíthatja a reagens reakcióképességének elvesztését. A reagenst 37 °C-on és –25 °C-on szállítási stabilitási vizsgálatot végeztek a BS EN ISO 23640:2015 dokumentumban leírtak szerint.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A vérmintákat EDTA, citrát, CPDA antikoagulánsokban vagy alvadtt mintaként lehet gyűjteni. A mintákat a mintavételét követően a lehető leghamarabb meg kell vizsgálni. Ha a vizsgálatot csak később lehet elvégezni, a mintákat tárolja 2–8 °C-on. A látható hemolízist vagy mikrobiális szennyeződést mutató mintákat nem szabad vizsgálatához használni. A lízise utaló jeleket mutató vérminták megbízhatatlan eredményeket adhatnak. A vizsgálat előtt javasolt (de nem feltétlenül szükséges) az összes vérminta PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal való mosása.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. A reagens kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál.
2. Ha az üveg megrepedt vagy szivárog, azonnal dobja ki a tartalmát.
3. Ne használja a reagenst a lejárati dátumot követően (lásd az **üveg címkéjét**).
4. Ne használja a reagenst csapadék jelenléte esetén.
5. A reagens kezelésekor védőruházatot, például eldobható kesztyűt és laboratóriumi köpenyt kell viselni.
6. A biológiai terhelés csökkentése érdekében a reagenst 0,2 µm-es kapszulán átszűrtek, de nem sterilen szállítják. Az üveg felnyitása után a tartalomnak a lejárati dátumig működőképesnek kell maradnia, mindaddig, amíg nincs benne látható zavarosság, amely a reagens károsodását vagy szennyeződését jelezheti.
7. A reagens < 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium-azid lenyelve mérgező lehet, illetve az ólom- és rézvezetékekkel reakcióba léphet és robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításakor nagy mennyiségű vízzel öblítse le.
8. A LISS-oldattal való érintkezés fehérítőszerrel együtt az alapfémek, például a réz és a vas gyorsított korrózióját okozza. Ezt figyelembe kell venni, amikor fehérítőszer használatát tervezik olyan szennyvízcsatorna vagy fém alkatrészekkel rendelkező területek szennyezettségmentesítéséhez, amelyek a LISS-oldattal is érintkezésbe léptek.
9. Egyetlen ismert vizsgálat sem tudja garantálni, hogy az állati eredetű termékek fertőző ágensektől mentesek. Az üvegek és azok tartalmának használatakor és ártalmatlanításakor óvatosan kell eljárni.

A REAGENS ÁRTALMATLANÍTÁSA ÉS A KIÖMLÖTT ANYAGOK KEZELÉSE

A reagens ártalmatlanításával és a kiömléssel érintett terület szennyeződésmentesítésével kapcsolatos információkat lásd a kérésre rendelkezésre álló **anyagbiztonsági adatlapokban**.

KONTROLLK ÉS TANÁCSOK

1. Javasolt az egyes vizsgálati tételekkel párhuzamosan Lorne Precise Weak Anti-D és megfelelő vörösvérsejtek (ideálisan R₁r és rr) vizsgálata. A vizsgálatokat érvénytelennek kell tekinteni, ha a kontrollk nem a várt eredményt mutatják.
2. Az antiglobulin módszer csak akkor tekinthető érvényesnek, ha az összes negatív teszt pozitívan reagál az IgG-szenzibilizált vörösvérsejtekkel.
3. A LISS-oldatnak, a vörösvérsejt-suszpenzióknak és a vizsgálati szérumoknak használat előtt szobahőmérsékleten kell lenniük a „hideg” antitestek miatti nem kívánt pozitív reakciók elkerülése érdekében.
4. Az **Ajánlott módszerek** című részben egy csepp körülbelül 50 µl az üveghez mellékelt cseppentő használatát esetén.
5. A reagens használatát és az eredmények értelmezését megfelelően képzett és képesített személyzetnek kell végeznie annak az országnak a követelményeivel összhangban, ahol a reagenseket használják.
6. A felhasználónak kell meghatároznia a reagens más módszerekkel végzett felhasználásra való alkalmasságát.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT REAGENSEK ÉS ANYAGOK

- Anti-humán globulin, azaz Lorne AHG Elite (katalógusszám: 435010 vagy 415010) vagy anti-humán IgG, azaz Lorne Anti-Human IgG (katalógusszám: 401010 vagy 402010).
- Coombs sejtmosó.
- Üveg kémcsövek (10 x 75 mm-es vagy 12 x 75 mm-es).
- IgG-szenzibilizált vörösvérsejtek, azaz Lorne Coombs Control Cells (katalógusszám: 970010).
- Lorne Precise Weak Anti-D (katalógusszám: 209005).
- PBS-oldat (pH 6,8–7,2) vagy izotóniás sóoldat (pH 6,5–7,5).
- Pozitív (ideálisan R₁r) és negatív (rr) kontroll vörösvérsejtek.
- Volumetrikus pipetták.
- 37 °C ± 2 °C-ra kiegyenlített vízfürdő vagy száraz fűtőinkubátor.

AJÁNLOTT MÓDSZER

1. Készítsen 2-3%-os vörösvérsejt-suszpenziót PBS-ben vagy izotóniás sóoldatban.
2. Tegyen egy felcímkézett kémcsőbe: 2 térfogat vizsgálati szérumot, 1 térfogat vörösvérsejt-suszpenziót és 2 térfogat Lorne LISS-ADD-t. Alaposan keverje össze, és inkubálja 37 °C-on 15 percig.
3. Mossa át a vörösvérsejteket négyszer PBS-sel vagy izotóniás sóoldattal, ügyelve arra, hogy a mosások között dekantálja a sóoldatot, és minden mosás után szuszpendálja újra a sejtledeket. Az utolsó mosás után teljesen dekantálja a sóoldatot.
5. Adjon 2 térfogat anti-humán globulint minden száraz sejtledekekhez.
6. Alaposan keverje össze, majd centrifugálja az összes csövet 20 másodpercig 1000 rcf-en vagy annak megfelelő, eltérő idő és erő alkalmazásával.
7. Óvatosan szuszpendálja újra a sejteket, majd olvassa le az agglutinációt.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYEINEK ÉRTELMEZÉSE

1. **Pozitív:** A vörösvérsejtek agglutinációja pozitív vizsgálati eredményt jelent.
2. **Negatív:** A vörösvérsejtek agglutinációjának hiánya negatív eredményt jelent.

A REAKCIÓ STABILITÁSA

1. A vizsgálatokat közvetlenül a centrifugálás után kell leolvasni. A késlekedés az antigén-antitest komplexek disszociációját eredményezheti, ami hamis negatív vagy gyenge pozitív reakciókhoz vezethet.
2. Az ajánlottól eltérő hőmérsékleten végzett vizsgálatok eredményeinek értelmezésekor óvatosan kell eljárni.

KORLÁTOK

1. Az IgG-bevonat miatt pozitív DAT-tal rendelkező vörösvérsejteket nem lehet tipizálni az indirekt antiglobulin módszerrel.
2. A LISS-ADD nem használható enzimkezelt vörösvérsejtekkel.
3. A LISS-ADD nem használható vörösvérsejt-suszpendáló közegeként.
4. A gyengén reaktív anti-A vagy anti-B nem mutatható ki potencírozó oldatokkal.
5. Előfordulhat, hogy egyes szobahőmérsékletű inkubációt igénylő IgM antitestek nem reagálnak az ajánlott vizsgálati eljárás körülményei között.
6. A szérum, a sejtek és a LISS-ADD ajánlott arányától való eltérés csökkentheti a vizsgálati eljárás szenzitivitását.

- Sóoldattal hígított szérum vagy a friss humán szérumtól eltérő szubsztrátumokkal készült eluátumok használata megnöveli az ionitást, és ezért befolyásolja a vizsgálat szenzitivitását.
- Hamis pozitív és hamis negatív eredmények előfordulhatnak nem megfelelő módszer vagy szennyezett vizsgálati anyagok miatt.
- A LISS-ADD nem fokozza az összes antigén-antitest reakciót.

SPECIÁLIS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

- A forgalomba hozatal előtt minden Lorne LISS-ADD tételnél kimutatták számos antigén-antitest reakció fokozását, az **Ajánlott módszerrel** történő használat esetén.
- Az oldat megfelel a Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom (Vértranszfúziós szolgáltatásokra vonatkozó irányelvek az Egyesült Királyságban) legutóbbi kiadásában szereplő ajánlásoknak.

NYILATKOZAT

- A felhasználó felelős a reagens teljesítményéért, ha azt az **Ajánlott módszer** című részben említettekől eltérő módszerekkel használják.
- Az **Ajánlott módszer** című résztől való bármilyen eltérést használat előtt validálni kell¹⁰.

IRODALOMJEGYZÉK

- 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.

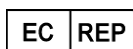
RENDELKEZÉSRE ÁLLÓ REAGENS MÉRTEK

Üvegméret	Katalógusszám	Vizsgálatok üvegenként
10 ml	480010	100
1000 ml	480000*	10 000

*Ez a méret csak további gyártási célú felhasználásra (For Further Manufacturing Use, FFMU) szolgál, és ezért nincs CE-jelöléssel ellátva.



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



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