

### ZWECKBESTIMMUNG

Mollison und Polley entdeckten 1964, dass die Reduzierung der Ionenstärke durch eine entsprechende Lösung (low ionic strength solution = Liss) die Antigen-Antikörper-Reaktion verstärkt.

Die vorliegende Liss-Lösung ist eine Modifizierung des von Löw, B. und Messeter, L. 1974 beschriebenen salzarmen Mediums zur Antikörper-Diagnostik.

LISS - Lösung modifiziert wird in der Blutgruppen - Serologie zur Erhöhung der Empfindlichkeit / Verstärkung von Agglutinationen sowie zur Verkürzung der Reaktionszeit zwischen Antikörpern und Erythrozyten eingesetzt.

Die Anwendung dieses Reagenzes ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

### PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Produktes angewendete Methodik beruht auf dem Prinzip der Agglutinationstechnik. Die geringe Ionenstärke der Lösung in Verbindung mit einem geringen Anteil an Rinderalbuminlösung und der geringeren Ionenkonzentration als in einer physiologischen NaCl-Lösung bewirkt, dass es zum Flüssigkeitseinstrom in die Erythrozyten kommt, sich dadurch eine größere Oberfläche ausbildet, verschiedene Antigene für die entsprechenden Antikörper besser zugänglich werden (Erhöhung der Empfindlichkeit), die AK-Menge außerhalb der Zelle erhöht wird, die Spezifität aber aufrechterhalten bleibt. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen werden durch einen korrespondierenden Antikörper erkannt und agglutiniert.

### TESTSEREN

Das aufgeführte Reagenz wird in der folgenden Form angeboten:

OptLISS LISS solution modified

Das Reagenz enthält als Konservierungsmittel Thimerosal. Die Lösung enthält zusätzlich Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary Service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

### WARNUNG

LISS solution modified wird aus biologischem Material hergestellt und sollte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Diese Lösung enthält Thimerosal, das toxisch wirken kann.

Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen.

Aus den oben genannten Gründen sollte das Reagenz mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

### LAGERUNG

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen gut verschlossen bei +2 bis +8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur.

Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden.

### HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschadgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Reagenzes.
- Die Reaktionsfähigkeit des Reagenzes wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Bakterielle und chemische Kontamination des Reagenzes ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Reagenzes festgestellt wird sollte es nicht mehr eingesetzt werden, die Veränderung kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- Ein leichter schwärzlicher Bodensatz durch Ausflockung des Konservierungsmittels (Thimerosal) ist möglich. Dies hat keine negativen Auswirkungen auf das Testergebnis.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die beschriebene Testmethode zur Anwendung gilt ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung dieses Reagenzes sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien in ihrer gültigen Fassung zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“<sup>1</sup>.

### PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüfbar werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen durch unsachgemäße Lagerung oder Kontamination der Probe zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

### VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung der Lösung ist nicht erforderlich.

Sie wird direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt.

### VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien:

- Röhrchenmethode:
1. Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
  2. Mikroliterpipette
  3. Zentrifuge
  4. Kurzzeitwecker
  5. isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
  6. Brutschrank
  7. Anti-Human-Globulin-Serum (Coobs-Serum/AHG Serum)

### Testdurchführung

#### Röhrchen-Zentrifugationsmethode

1. 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftete Teströhrchen 50µl (alternativ 1 Tropfen = ca. 50µl) der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
3. 100 µl (alternativ je 2 Tropfen = ca. 100 µl) eines zu testenden Patienten/Probanden Serums/Plasmas bzw. Testserums zugeben.
4. anschließend 100µl (alternativ 2 Tropfen = ca. 100 µl) LISS solution in das Teströhrchen zugeben.
5. Die Erythrozyten-/Reagenzmischung durch leichtes Schütteln mischen.
6. Teströhrchen 10 Minuten bei 37°C inkubieren.
7. Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
8. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
9. Ergebnis protokollieren.

10. Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
11. Anschließend in das Teströhrchen 100 µl Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum) geben, durch leichtes Schütteln den Zellknopf vom Röhrchenboden lösen und mit dem Coombs-Serum / AHG-Serum mischen.
12. Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
13. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb von 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen.
14. Ergebnis protokollieren.

### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schütteln" bei der Röhrchen-Zentrifugationsmethode:

Positives Ergebnis (+): Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt die Anwesenheit des entsprechenden Antigens an.











Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten, das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.

### GRENZEN DER TESTMETHODEN

1. Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
2. Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
3. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht im Test eingesetzt werden.
4. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.<sup>2</sup>
5. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesem Testserum zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
6. Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antigliobulintest), sind für die Austestung ungeeignet.
7. Es ist in der Literatur beschrieben, dass es mit Proben von Patienten, die mit anti-CD38 monoklonalen Antikörpern behandelt werden, zu falsch positiven Ergebnissen im Coombs-Test kommen kann.<sup>5</sup>

### LITERATUR

1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. Peter D. Issitt, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, 4. Edition, Montgomery Scientific Publications 1998
3. Brecher ME. ed. Technical manual 14<sup>th</sup> ed. Bethesda MD: American Association of Blood Banks, 2002
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.




 REF	Artikel-Nummer	 LOT	Charge
	Lagerung von - bis		Verfallsdatum
 IVD	In-Vitro Diagnostikum		EG CE Symbol
	Hersteller nach 98/79/EG		Gebrauchsinformation beachten
 UDI	Unique Device Identification		Vertreiber

### REF


847610	OptLISS LISS solution modified	10 ml
847650	OptLISS LISS solution modified	50 ml

730-13-2007 Version 008 / 15. April 2022



 ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland  
 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  [gara@antitoxin-gmbh.de](mailto:gara@antitoxin-gmbh.de)

# OPTIMA TESTSEREN

Industriestraße 88  
 69245 Bammental, Deutschland  
 06223-97 22 59 / 0800 23 24 536