

PRODUCT INSERT

Ανίχνευση LIFECODES® C3d

Για διαγνωστική χρήση *In Vitro*.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Ορισμός συμβόλων.....	1	Απαιτούμενα, αλλά όχι παρεχόμενα υλικά.....	2
Προοριζόμενη χρήση.....	1	Συλλογή δειγμάτων και προετοιμασία.....	2
Περίληψη και εξήγηση.....	1	Οδηγίες χρήσης.....	3
Αρχές της διαδικασίας.....	1	Αποτελέσματα.....	4
Παρεχόμενα αντιδραστήρια.....	2	Έλεγχος ποιότητας.....	5
Α. Ταυτοποίηση και συνθήκες αποθήκευσης.....	2	Περιορισμοί της διαδικασίας.....	5
Β. Προειδοποιήσεις ή προφυλάξεις.....	2	Αντιμετώπιση προβλημάτων.....	5
Γ. Καθαρισμός ή επεξεργασία που απαιτείται για τη χρήση.....	2	Ειδικά χαρακτηριστικά απόδοσης.....	6
Δ. Ενδείξεις αστάθειας.....	2	Βιβλιογραφία.....	6
		Κατασκευαστής και εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος.....	6

ΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

(Ετικέτες προϊόντων και συμπληρωματικά έγγραφα)

Κωδικός παρτίδας



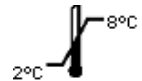
Αριθμός καταλόγου



Ημερομηνία λήξης



Εύρος θερμοκρασιών (αποθήκευση)



Κατασκευαστής



Φωτοευαίσθητο (Να κρατηθεί μακριά από το φως)



Θερμοκρασία (αποθήκευση)



Επαρκές για N δοκιμές



Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα



Προειδοποίηση



ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η ανίχνευση LIFECODES® C3d είναι ένας ποσοτικός προσδιορισμός με σκοπό την ανίχνευση συμπληρωματικού σε σύμπλοκο αντισώματος/αντιγόνου σε ανθρώπινο ορό.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΞΗΓΗΣΗ

Αυτό το προϊόν σχεδιάστηκε για την ανίχνευση συνδετικής ουσίας συμπληρώματος C3d σε σύμπλοκο αντισώματος/αντιγόνου. Αυτό το προϊόν περιέχει συζευγμένο PE αντι-ανθρώπινο αντίσωμα C3d, σφαιρίδιο θετικού μάρτυρα, συμπλήρωμα που περιέχει ανθρώπινους ορούς και ρυθμιστικό διάλυμα έκπτυξης.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Ένα κλάσμα των συνδετικών ουσιών των σφαιριδίων με αντιγόνα HLA επιτρέπεται να επωασθεί μαζί με ένα μικρό όγκο δείγματος ορού δοκιμής. Μετά από αυτήν την αρχική επώαση, το αντιδραστήριο αρνητικού ορού προστίθεται ως πηγή συμπληρώματος για μια πρόσθετη επώαση. Τα ευαισθητοποιημένα σφαιρίδια στη συνέχεια θα εκπλυθούν για να απομακρυνθεί το μη συνδεδεμένο αντίσωμα. Στη συνέχεια, προστίθεται ένα αντι-ανθρώπινο αντίσωμα C3d συζευγμένο με φυκοερυθρίνη. Έπειτα, από μία ακόμη επώαση, το δοκιμαστικό δείγμα εκπλύνεται, αραιώνεται και αναλύεται στο εργαλείο Lumiplex. Η ένταση του σήματος από κάθε σφαιρίδιο, για το δείγμα δοκιμής,

συγκρίνεται με την ένταση του σήματος των ορών αρνητικού μάρτυρα για να καθοριστεί αν το δείγμα θα πρέπει να θεωρηθεί θετικό ή αρνητικό για C3d σε σύμπλοκο αντισώματος/αντιγόνου.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

A. Ταυτοποίηση και συνθήκες αποθήκευσης Ανίχνευση C3d, Αριθμός προϊόντος 265400

- C3dCJ** Σύζευγμα C3d (Α/Π 265410; 1200 μL). Συζευγμένο PE αντι-ανθρώπινου αντισώματος C3d σε έτοιμο για χρήση ρυθμιστικό διάλυμα αποθήκευσης με βάση το φώσφορο που περιέχει NaCl, Tween-20 και αζίδιο νατρίου. ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΤΟ. Κρατήστε το προϊόν μακριά από την έκθεση στο φως για παρατεταμένο χρονικό διάστημα. **Αποθηκεύστε σε θερμοκρασία 2 έως 8°C σε σκοτεινό μέρος έως και 3 μήνες ή σε ≤-65°C έως την ημερομηνία λήξης.** Μπορεί να επαναψυχθεί έως και 6 φορές στους ≤-65°C μετά την αρχική απόψυξη.
- C3dCS** Ορός συμπληρώματος (Α/Π 265415 ; 2 φιαλίδια x 360 μL). Ορός από αρσενικό δότη που δεν έχει υποβληθεί σε μεταγγιση. **Αποθηκεύστε στους ≤-65°C.** Μπορεί να επαναψυχθεί έως και 4 φορές μετά την αρχική απόψυξη.
- C3dPCB** Σφαιρίδιο θετικού μάρτυρα C3d (Α/Π 265405; 24 μL). Το ρυθμιστικό διάλυμα αποθήκευσης με βάση το φώσφορο περιέχει NaCl, Tween-20, αζίδιο νατρίου και βόειο πρωτεΐνες. ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΤΟ. **Αποθηκεύστε στους ≤-65°C.** Μπορεί να επαναψυχθεί έως και 6 φορές μετά την αρχική απόψυξη.
- LSAWB** Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης LSA (Α/Π 265001; 25 mL). Ένα ρυθμιστικό διάλυμα με βάση το φώσφορο που περιέχει NaCl, Tween-20 και αζίδιο νατρίου. **Να φυλάσσεται στους 2 έως 8°C** και να αποκτά θερμοκρασία δωματίου (20-24°C) πριν από τη χρήση.

B. Προειδοποιήσεις ή προφυλάξεις

- Για διαγνωστική χρήση In Vitro.
- Το υλικό ανθρώπινης προέλευσης που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή αυτού του κιτ δοκιμάστηκε και βρέθηκε αρνητικό για αντισώματα στους ιούς HIV, HCV, και HBsAg με μεθόδους εγκεκριμένες από την υπηρεσία FDA. Ωστόσο, καμία δοκιμαστική μέθοδος δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διασφάλιση ως προς την απουσία μολυσματικών παραγόντων. Επομένως, όταν εργάζεστε με αυτά τα υλικά, **να εφαρμόζετε τις Γενικές Προφυλάξεις.**
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν 0,1% αζίδιο νατρίου ως συντηρητικό, το οποίο μπορεί να αντιδράσει με τις σωληνώσεις μόλυβδου και χαλκού και να σχηματίσει εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Να χρησιμοποιείτε άφθονες ποσότητες νερού όταν απορρίπτετε υλικά στο νεροχύτη.
- Η βακτηριακή μόλυνση των δειγμάτων ή η παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων ή άλλου συνόλου ανοσογλοβουλίνης μπορεί να προκαλέσει αυξημένη μη συγκεκριμένη σύνδεση και λανθασμένα αποτελέσματα.
- Απαλλαγείτε από όλα τα υλικά μετά τη χρήση σύμφωνα με τους εγχώριους κανονισμούς.
- Για επιπλέον πληροφορίες ανατρέξτε στα Φύλλα δεδομένων ασφαλείας.
- Οι οροί συμπληρώματος που παραμένουν στους 2 έως 8°C για μεγάλα χρονικά διαστήματα επιδεικνύουν μειωμένη δραστηριότητα συμπληρώματος.
- Τα σφαιρίδια και το συμπυκνωμένο σύζευγμα είναι ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΤΑ. Κρατήστε το προϊόν μακριά από την έκθεση στο φως για 3 ώρες ή λιγότερο.

C. Καθαρισμός ή επεξεργασία που απαιτείται για τη χρήση

- Ανατρέξτε στην ενότητα «Συλλογή δειγμάτων και προετοιμασία.»
- Όλα τα συστατικά είναι έτοιμα για χρήση και δεν απαιτείται αραίωση.

D. Ενδείξεις αστάθειας

- Μη χρησιμοποιείτε συστατικά ή μάρτυρες που παρουσιάζουν θολότητα ή έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης τους.

ΥΛΙΚΑ, ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ: Απαιτούμενα, αλλά ΟΧΙ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ

- Κιτ LIFECODES LSA Τάξη I (Α/Π 265100, LSA1) ή LIFECODES LSA Τάξη II (Α/Π 265200, LSA2).
- Απαιτούμενος εξοπλισμός για την εκτέλεση του προσδιορισμού LIFECODES LSA Τάξη I ή Τάξη II (βλ. αντίστοιχο ένθετο προϊόντων, LC976CE)

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΟΡΟΥ

Το αίμα πρέπει να συλλέγεται χωρίς αντιπηκτικό με ασηπτική τεχνική και να ελέγχεται όσο είναι ακόμη φρέσκο ή να αποθηκεύεται σωστά ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα εμφάνισης ψευδώς θετικών ή ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων λόγω ακατάλληλης αποθήκευσης ή μόλυνσης του δείγματος. Ο ορός πρέπει να αποθηκεύεται σε θερμοκρασία από 2 έως 8°C για 48 ώρες το πολύ. Εάν ο ορός πρόκειται να αποθηκευτεί για περισσότερο από 48 ώρες, πρέπει να ψυχθεί στους -20°C ή στους -80°C για 2 έτη το πολύ. Μεμονωμένα εργαστήρια θα πρέπει να εξακριβώνουν και να επαληθεύουν τις μεθόδους αποθήκευσης ορών για περισσότερα από 2 έτη. Ο ορός θα πρέπει να διαχωρίζεται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια κατά την αποθήκευση ή αποστολή. Αποφύγετε την επανειλημμένη ψύξη και απόψυξη των δειγμάτων ορού.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μη χρησιμοποιείτε μικροβιολογικά μολυσμένους, αιμολυμένους, λιπαιμικούς ή απενεργοποιημένους με θερμότητα ορούς καθώς αυτά τα δείγματα ενδέχεται να δώσουν αντιφατικά αποτελέσματα.

Πριν τον προσδιορισμό, όλα τα δείγματα πρέπει να αναμειχθούν για λίγο με δονητικό αναδευτήρα (30 δευτερόλεπτα σε περίπου 10.000xg) για να ιζηματοποιηθεί κάθε σωματίδιο που ενδέχεται να υπάρχει.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

- ΠΡΕΠΕΙ να δοθεί προσοχή ώστε να αποφευχθεί η μόλυνση του ρυθμιστικού διαλύματος πλήσης και του αντιδραστήριου αντι-ανθρώπινου C3d. Η ακούσια μόλυνση αυτών των αντιδραστηρίων με ανθρώπινο ορό ενδέχεται να οδηγήσει σε αποτυχία της δοκιμής.
- Ένα δείγμα θετικών και αρνητικών ορών ελέγχου πρέπει να περιλαμβάνεται σε κάθε δοκιμή για να βοηθήσει να διαπιστώνονται τα τεχνικά σφάλματα ή οι αποτυχίες των αντιδραστηρίων.
- Ο Συμπληρωματικός ορός είναι ένα αντιδραστήριο αρνητικού ορού για τον προσδιορισμό ανίχνευσης C3d ως βασική πηγή συμπληρώματος.
- Επιπλέον, τηρήστε τις γενικές προφυλάξεις που περιγράφονται στο Ένθετο προϊόντος LIFECODES LSA (LC976CE).

1. Ενεργοποιήστε το εργαλείο Lumiplex και αφήστε 30 λεπτά για προθέρμανση.
2. Αφαιρέστε το Μίγμα σφαιριδίων LSA, το Σφαιρίδιο θετικού μάρτυρα C3d (C3dPCB), τον Ορό συμπληρώματος C3d (C3dCS) και το Σύζευγμα C3d (C3dCJ) από τους -65°C της κατάψυξης και αποθηκεύστε σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να ολοκληρωθεί η απόψυξη. Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε αμέσως σε πάγο και προστατεύστε από το φως.
3. Φέρτε το Ρυθμιστικό διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 24°C) πριν από τη χρήση. Κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος, χρησιμοποιήστε το Φύλλο μορφής πλάκας (LC979) για να εκχωρήσετε μια θέση στην πλάκα για καθέναν από τους ορούς και τους μάρτυρες που πρόκειται να αναλυθούν. **Οι Οροί αρνητικού μάρτυρα (παρέχονται με τα κιτ LSA1 και LSA2) χρησιμοποιούνται ως αρνητικοί μάρτυρες.**
4. Καλύψτε τα μη εκχωρημένα φρεάτια της Πλάκας φίλτρου με αυτοκόλλητο πλαστικό κάλυμμα. Έπειτα, προϋγράνετε τα φρεάτια που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν με 100-300 μL απεσταγμένου νερού. Μετά από 2-5 λεπτά, αφαιρέστε το νερό με απαλή αναρρόφηση χρησιμοποιώντας πολλαπλό κενό. (Βλ. τις συστάσεις του κατασκευαστή για την κατάλληλη χρήση του προϊόντος).
5. Ετοιμάστε σύντομα τα Σφαιρίδια HLA (30 δευτερόλεπτα) με φυγοκέντρηση του φιαλιδίου περίπου στα 600 – 800 x g για να αφαιρέσετε τυχόν σφαιρίδια ή υγρό από το καπάκι ή τα τοιχώματα του φιαλιδίου. Αναμίξτε επιμελώς με δονητικό αναδευτήρα (~1 λεπτό) για να τοποθετηθούν (αιωρηθούν) ομοιόμορφα τα σφαιρίδια. Σε ξεχωριστό φιαλίδιο συνδυάστε 1 μL/δείγμα C3dPCB με κατάλληλο όγκο σφαιριδίων LSA (40 μL/δείγμα). Αναμίξτε επιμελώς με δονητικό αναδευτήρα (~1 λεπτό) για να τοποθετηθούν (αιωρηθούν) ομοιόμορφα τα σφαιρίδια.
6. Προσθέστε 40 μL Μίγματος σφαιριδίων LSA με C3dPCB σε κάθε φρεάτιο δοκιμής της πλάκας φίλτρου. Αναμίξτε ξανά τα σφαιρίδια LSA στο φιαλίδιο κάθε 2 λεπτά για να διατηρούνται σε κατάσταση αιώρησης κατά τη διανομή τους. Στη συνέχεια, πραγματοποιήστε φυγοκέντρηση ορού (30 δευτερόλεπτα στα ~10,000 x g) και προσθέστε 10 μL ορού ή ορού μάρτυρα και αναμίξτε.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Είναι σημαντικό να διατηρείτε τα σφαιρίδια σε κατάσταση επαναιώρησης για να διασφαλίζετε ότι μοιράζονται αρκετά σφαιρίδια στα φρεάτια και να διασφαλίζετε χαμηλούς χρόνους καταμέτρησης σφαιριδίων. Αν δεν αναμειγνύονται κατά διαστήματα τα σφαιρίδια σε δονητικό αναδευτήρα, τα σφαιρίδια θα εγκατασταθούν κοντά στον πυθμένα του σωληναρίου. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την τοποθέτηση διαφορετικών ποσοτήτων σφαιριδίων στα φρεάτια, γεγονός το οποίο ενδέχεται να έχει αρνητική επίδραση στους χρόνους εκτέλεσης και στην ανάλυση των αποτελεσμάτων.

7. Καλύψτε την πλάκα με αυτοκόλλητο πλαστικό κάλυμμα και έπειτα, περικαλύψτε την ή συσκευάστε την σε κουτί για να προστατευτεί από το φως. Επώαστε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20-24°C) σε σκοτεινό μέρος σε περιστρεφόμενη πλατφόρμα (200 περιστροφές ανά λεπτό). Επιστρέψτε την ποσότητα των ορών ελέγχου και σφαιριδίων που δεν έχει χρησιμοποιηθεί προς αποθήκευση στους 2 έως 8°C για μελλοντική χρήση. Επιστρέψτε την ποσότητα του μείγματος σφαιριδίων LSA και C3dPCB που δεν έχει χρησιμοποιηθεί προς αποθήκευση στους ≤-65°C στο σκοτάδι για μελλοντική χρήση.

8. Μετά από επώαση 30 λεπτών αφαιρέστε το αυτοκόλλητο πλαστικό κάλυμμα και προσθέστε 30 µL C3dCS σε κάθε φρεάτιο, συμπεριλαμβανομένου του φρεάτιου αρνητικού μάρτυρα. Επιστρέψτε το **C3dCS προς αποθήκευση στους ≤-65°C αμέσως μετά τη χρήση**. Περικαλύψτε την πλάκα ή συσκευάστε σε κουτί για να το προστατεύσετε από το φως. Τοποθετήστε σε περιστρεφόμενη πλατφόρμα (ρυθμίστε στις 200 περιστροφές ανά λεπτό) ή αναμίξτε απαλά με δονητικό αναδευτήρα κάθε 5-10 λεπτά. Επώαστε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 24°C).
9. Μετά από επώαση 30 λεπτών αφαιρέστε το αυτοκόλλητο πλαστικό κάλυμμα και προσθέστε 100 µL Ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε κάθε φρεάτιο. Αναμίξτε χτυπώντας απαλά την πλάκα πλευρικά και αναρροφήστε απαλά την πλάκα.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η χρήση υπερβολικής ισχύος κενού θα κάνει τα σφαιρίδια να προσκολληθούν στη μεμβράνη και ενδέχεται να προκαλέσουν την αποτυχία του δείγματος. Εφαρμόστε την ελάχιστη πίεση κενού που απαιτείται για την αναρρόφηση των δειγμάτων.

10. Προσθέστε 250 µL Ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε κάθε φρεάτιο, αντλήστε, και επαναλάβετε άλλες τρεις φορές.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η ανεπαρκής πλύση μπορεί να μειώσει την ικανότητα του συζεύγματος να ανιχνεύει C3d σε σύμπλοκο αντισωμάτων/αντιγόνων και να προκαλέσει λανθασμένα αρνητικά αποτελέσματα.

11. Φυγοκεντρήστε το C3dCJ για 30 δευτερόλεπτα σε μικροφυγόκεντρο (~600 – 800 x g). Το C3dCJ είναι έτοιμο για χρήση και δεν απαιτείται αραίωση. Προσθέστε 50 µL C3dCJ σε κάθε φρεάτιο. Αποθηκεύστε το υπολειπόμενο C3dCJ στους 4°C έως και τρεις μήνες ή αποθηκεύστε το στους ≤-65°C έως την ημερομηνία λήξης.
12. Περικαλύψτε την πλάκα ή συσκευάστε σε κουτί για να το προστατεύσετε από το φως. Τοποθετήστε σε περιστρεφόμενη πλατφόρμα (ρυθμίστε στις 200 περιστροφές ανά λεπτό) ή αναμίξτε απαλά με δονητικό αναδευτήρα κάθε 5-10 λεπτά. Επώαστε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 24°C).
13. Μετά από επώαση 30 λεπτών αφαιρέστε το αυτοκόλλητο πλαστικό κάλυμμα και προσθέστε 100 µL Ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε κάθε φρεάτιο. Αναμίξτε χτυπώντας απαλά την πλάκα πλευρικά και αναρροφήστε απαλά την πλάκα.
14. Προσθέστε 250 µL Ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε κάθε φρεάτιο και αντλήστε.
15. Χρησιμοποιώντας μία καθαρή απόληξη πιπέτας, προσθέστε 200 µL ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε κάθε φρεάτιο και αναμίξτε για να αιωρηθούν εκ νέου τα σφαιρίδια.
16. Συλλέξτε δεδομένα με το εργαλείο Lumiplex χρησιμοποιώντας τις συστάσεις του κατασκευαστή **και χρησιμοποιήστε ένα πρότυπο Lumiplex C3d (ανατρέξτε στο LIFECODES LSA για τις πληροφορίες της συγκεκριμένης παρτίδας)**. Καθυστερήσεις μεγαλύτερες από 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου μπορεί να αυξήσουν την πιθανότητα εμφάνισης ψευδώς θετικών ή ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων. Επιστρέψτε την ποσότητα Ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης που δεν έχει χρησιμοποιηθεί προς αποθήκευση στους 2 έως 8°C για μελλοντική χρήση.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ανίχνευση C3d: Για να αναλύσετε τα αποτελέσματα για μια παρτίδα δειγμάτων:

1. Δημιουργήστε ένα φύλλο εργασίας ανοίγοντας ένα αντίγραφο του αρχείου εξόδου CSV με τα αποτελέσματα από την παρτίδα Lumiplex και πατήστε «Αποθήκευση ως» σε ένα αρχείο Excel. Αυτό το αρχείο θα χρησιμοποιηθεί για τους υπολογισμούς που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.
2. Από το συγκεκριμένο Φύλλο εργασιών καταγραφής που παρέχεται με το kit LSA, αντιγράψτε το όνομα του αντιγόνου που αντιστοιχεί σε κάθε σφαιρίδιο.
3. Στη συνέχεια, διαιρέστε τις τιμές MFI του ορού αρνητικού μάρτυρα (ορός MFI ή NC) από το ΚΑΘΑΡΟ MFI για κάθε μεμονωμένο σφαιρίδιο για να υπολογίσετε το Προκαθορισμένο ιστορικό MFI (Προκαθορισμένο BG).

(a) Προκαθορισμένο BG MFI = MFI δείγματος – Ορός MFI από NC

4. Έπειτα, διαιρέστε το BG Προκαθορισμένο MFI από το MFI του Υπολογισμένου μάρτυρα (CalcCON) της αντίστοιχης θέσης για την παραγωγή του Ιστορικού διορθωμένης σχέσης (BCR-Neg). Το CalcCON για κάθε θέση είναι η τιμή Καθαρού MFI της χαμηλότερης κατηγορίας σφαιριδίου αντιγόνου για εκείνη τη θέση.

(b) BCR-Neg = $\frac{\text{BG Προκαθορισμένο MFI αντιγόνου}}{\text{Χαμηλότερη τιμή Raw MFI θέσης}}$

5. Τέλος, διαιρέστε το BG Προκαθορισμένο MFI αντιγόνου από την αντίστοιχη τιμή MFI του αντιγόνου για τον ορό αρνητικού μάρτυρα LSA (NC) για την παραγωγή της σχετικής ισχύος (ισχύς R).

(c) Ισχύς R = $\frac{\text{BG Προκαθορισμένο MFI αντιγόνου}}{\text{Καθαρή Τιμή MFI αντιγόνου}}$

Ένα σφαιρίδιο θεωρείται θετικό εάν δύο ή περισσότερες προκαθορισμένες τιμές είναι επάνω από τις αποκομμένες τιμές. Ανατρέξτε στο Πιστοποιητικό ανάλυσης του προϊόντος Ανίχνευσης C3d (265400) για τις θετικές και αρνητικές προεπιλεγμένες αποκομμένες τιμές. Χαμηλότερες ή υψηλότερες ευπάθειες μπορούν να αποκτηθούν προσαρμόζοντας την αποκοπή.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Ο έλεγχος ποιότητας του προσδιορισμού LMX υπάρχει μέσα στη δοκιμασία του συστήματος και περιλαμβάνει τέσσερα σφαιρίδια μάρτυρα (ένα σφαιρίδιο θετικού μάρτυρα και τρία σφαιρίδια αρνητικού μάρτυρα). Αυτοί οι οροί ελέγχου πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε δοκιμή για να διαπιστώνονται τα τεχνικά σφάλματα ή οι αποτυχίες των αντιδραστηρίων. Ο Ορός θετικού ελέγχου θα αντιδράσει με έναν αριθμό συζευγμένων σφαιριδίων LSA, παράγοντας ένα μοτίβο παρόμοιο με εκείνο που βρέθηκε στο ειδικό φύλλο καταγραφής της παρτίδας. Ο Ορός αρνητικού μάρτυρα θα αντιδράσει με λίγα ή κανένα από τα σφαιρίδια συζευγμένου LSA.

Το Σφαιρίδιο θετικού μάρτυρα C3d θα πρέπει να εμφανίσει τιμές MFI ≥ 10.000 με προσδιορισμό χρησιμοποιώντας τον ορό αρνητικού μάρτυρα. Οι τιμές δειγμάτων χαμηλότερες από 10.000 MFI ενδεχομένως να υποδεικνύουν ότι έχει προστεθεί ανεπαρκές C3dCJ, ο προσδιορισμός ενδεχομένως να εκπλυθεί ανεπαρκώς ή το C3dCJ να είναι ακατάλληλο.

Η μέτρηση σφαιριδίων θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 40 περιστατικών.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μπορεί να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα λόγω βακτηριακής μόλυνσης των υλικών ελέγχου, ακατάλληλων χρόνων επώασης, ακατάλληλης έκπλυσης σφαιριδίων, έκθεσης του C3dCJ στο φως ή παράλειψης αντιδραστηρίων ή βημάτων της δοκιμής.

Η παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων ή άλλου συνόλου ανοσογλοβουλίνης στον ορό δείγματος μπορεί να προκαλέσει αυξημένη μη ειδική σύνδεση και λανθασμένα αποτελέσματα στον παρόν προσδιορισμό.

Οι τίτλοι ορού αντισωμάτων χρειάζονται δείγμα και συγκεκριμένο χρόνο. Εάν πολλά σφαιρίδια παράγουν τιμές MFI πάνω από 15.000, ίσως χρειαστεί να αραιώσετε τον ορό.

Λόγω της φύσης του σύμπλοκου της δοκιμής HLA και των πολλών παραγόντων που ενδέχεται να επηρεάσουν το συμπληρωματικό ινωδολυτικό που οδηγεί στον σχηματισμό του C3d, εξειδικευμένο προσωπικό θα πρέπει να επανεξετάσει και να ερμηνεύσει τα αποτελέσματα. Η χρήση οποιουδήποτε ορού μάρτυρα και αποκομμένων τιμών άλλων από εκείνων που παρέχονται στο πιστοποιητικό ανάλυσης δεν έχουν επαληθευτεί.

Αυτή η δοκιμή δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική βάση για κλινικές αποφάσεις.

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

(Επίσης ανατρέξτε στο Ένθετο προϊόντος LIFECODES LSA Τάξη I και Τάξη II LC976CE).

ΠΡΟΒΛΗΜΑ	ΠΙΘΑΝΗ ΑΙΤΙΑ	ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ
Χαμηλή μέτρηση σφαιριδίων μόνο για C3dPCB	Ανεπαρκή σφαιρίδια προστέθηκαν στο Μίγμα σφαιριδίων LSA	Δονητικός αναδευτήρας για πλήρη εναιώρηση, αποφύγετε τη χρήση πιπέτας <3 μL, χρησιμοποιήστε βαθμονομημένες πιπέτες
	Αποτυχίες εργαλείου – εκτός βαθμονόμησης Φωτολεύκανση σφαιριδίων	Βλ. εγχειρίδιο Luminex Χρήση νέου φιαλιδίου C3dPCB
Τιμές MFI θετικού μάρτυρα C3d MFI με ορό <10,000 MFI	Η φωτολεύκανση ή ανεπαρκής ποσότητα C3dCJ προστέθηκε στην αντίδραση	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό. Χρησιμοποιήστε νέο φιαλίδιο C3dCJ
	Ανεπαρκής έκπλυση	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό και παρακολουθήστε τις εκπλύσεις
Χαμηλό MFI για ορό θετικού μάρτυρα	Λανθασμένη προσθήκη δείγματος	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό με το σωστό δείγμα μάρτυρα
	Ανεπαρκής ποσότητα C3dCJ προστέθηκε στην αντίδραση	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό με τη σωστή ποσότητα C3dCJ
	Ανεπαρκής ποσότητα C3dCS ή δεν προστέθηκε στην αντίδραση	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό προσθέτοντας C3dCS
	Χαμηλή θερμοκρασία προσδιορισμού	Επιβεβαιώστε ότι ο προσδιορισμός ολοκληρώθηκε στους 20°C-24°C. Δοκιμάστε το υψηλότερο άκρο του εύρους θερμοκρασίας για υψηλότερο MFI.
Μη ομαλό μοτίβο ορού θετικού μάρτυρα	Λανθασμένη προσθήκη δείγματος	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό με το σωστό δείγμα μάρτυρα
	Ανεπαρκής έκπλυση	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό και παρακολουθήστε τις εκπλύσεις
Υψηλό MFI για ορό αρνητικού μάρτυρα (>1500 MFI)	Ανεπαρκής έκπλυση	Επαναλάβετε τον προσδιορισμό και παρακολουθήστε τις εκπλύσεις για να βεβαιωθείτε ότι τα σφαιρίδια έχουν εναιωρηθεί ξανά κατά την έκπλυση.
		Μειώστε την ισχύ του κενού

ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Όταν το LIFECODES C3d Detection χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις διαδικασίες που περιγράφονται παραπάνω, τα αποτελέσματα αποκαλύπτουν την παρουσία ή απουσία συμπληρώματος συμπλόκου αντισωμάτων/αντιγόνων.

Πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη με χρήση 142 δειγμάτων ανάμεσα σε Ανίχνευση LIFECODES C3d και Κυταρροτοξικότητα εξαρτώμενη από το συμπλήρωμα (CDC). Για αυτό το σετ δειγμάτων, η ευαισθησία της Ανίχνευσης LIFECODES C3d ήταν καλύτερη από τη δοκιμή CDC για την ανίχνευση του αντισώματος HLA σύνδεσης συμπληρώματος σε δείγματα θετικού ορού όπως μετρίεται από τους προσδιορισμούς LIFECODES LSA Τάξη I και Τάξη II.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Sicard, A. et al. Detection of C3d-Binding Donor-Specific Anti-HLA Antibodies at Diagnosis of Humoral Rejection Predicts Renal Graft Loss. *J Am Soc Nephrol*, 2015; 26(2): 457-467.
2. Thomas, K.A. et al. An Anti-C1s Monoclonal, TNT003, Inhibits Complement Activation Induced by Antibodies Against HLA. *Am J Transplant*. 2015; 15(8): 2037-2049.
3. Mueller, T.F.; Oberkofler C.E. and Clavien P.A. What's Hot, What's New at WTC—Clinical Science. *Am J Transplant*. 2015; 15(2):327-332.
4. Lan, J. et al. Clinical Relevance of C3d-Binding Donor-Specific Antibodies in Late Kidney Allograft Failure. *Am J Transplant*. 2015; 15(S3).
5. Lan, J. et al. Complement-Fixing Donor-Specific HLA Antibodies Detected By Novel C3d Assay Are Associated With Antibody Mediated Rejection in Heart Transplant Recipients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 2015; 34(4): S130.
6. Toutirais, O. et al. Clinical outcome of heart transplant recipients with complement binding donor specific antibodies. *Tissue Antigens*. 2015; 85(5): 431.
7. Dubois, V. et al. Pregnancy and Donor-Specific HLA-antibody-mediated humoral rejection in young women after liver transplantation: "Liaisons Dangereuses"? *Tissue Antigens*. 2015; 85(5): 306.
8. Wahrman, M. et al. Modified solid-phase alloantibody detection for improved crossmatch prediction. *Human Immunol*, 2013; 74(1): 32–40.
9. Sacks, S.H. and Zhou, W. The role of complement in the early immune response to transplantation. *Nature Rev Immunol*, 2012; 12(6): 431-442.
10. Gieraj, B.; Górnicka, B.; Wasutyński, A. Role of C3d and C4d complement fragments in the diagnostics of acute allograft rejection after transplantations. *Ann Transplant*, 2009; 14(4): 61-70.
11. Rodríguez, E.R. et al. Antibody-Mediated Rejection in Human Cardiac Allografts: Evaluation of Immunoglobulins and Complement Activation Products C4d and C3d as Markers. *Am J Transplant*, 2005; 5(11): 2778–2785.

ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗΣ

Κατασκευαστής: Immucor Transplant Diagnostics, Inc., 550 West Avenue, Stamford, CT 06902 **ΗΠΑ.**

Τηλέφωνο: +1-203-328-9500, 888-329-0255, Φαξ: +1-203-328-9599

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Adam-Opel-Strasse 26A, Rodermark 63322, Γερμανία

Τηλέφωνο: (+49) 6074-84 20 -0, Φαξ: (+49) 6074-84 20-99

Τεχνικό σέρβις στην Ευρώπη: +32/3 385 47 91

Εκδόθηκε: Αναθ. 0, 2015-08-21

