

Документацията и преводите за продукта са на разположение на: www.immucor.com

Л И С Т О В К А Н А П Р О Д У К Т А

LIFECODES LSA™ Клас I: *Luminex®* скринингов тест за качествено откриване на IgG антитела към HLA Клас I молекули.

LIFECODES LSA™ Клас II: *Luminex®* скринингов тест за качествено откриване на IgG антитела към HLA Клас II молекули.

За ин витро диагностика

СЪДЪРЖАНИЕ

Определения на символите.....	1	Вземане и подготовка на проби.....	4
Предназначение.....	2	Процедура.....	3
Резюме и обяснение.....	2	А. Предоставени материали.....	4
Принципи на процедурата.....	2	Б. Необходими, но не	
Реагенти.....	2	предоставени материали.....	4
А. Идентификация.....	2	Инструкции за употреба.....	4
Б. Предупреждения и предпазни мерки.....	3	Резултати.....	5
В. Инструкции за съхранение.....	3	Качествен контрол.....	5
Г. Пречистване или обработка		Ограничения на процедурата.....	5
за употреба.....	3	Отстраняване на проблеми.....	6
Д. Показания за нестабилност.....	3	Специфични работни характеристики.....	6
Изисквания към апарата.....	3	Литература.....	6

ОПРЕДЕЛЕНИЯ НА СИМВОЛИТЕ

(Етикети на продуктите и допълнителни документи)

Код на партидата	LOT	Каталожен номер	REF	Използвайте по дата		Температурен диапазон (съхранение)	
Проба	SAMPLE	Производител		Праг на среден интензитет на флуоресценция	MFI TH	Температура (съхранение)	
Разтвори преди употреба	DIL	Чувствителен към светлина (да се съхранява далеч от светлина)		Достатъчен за N тестове		Консултирайте се с инструкциите за употреба	
Име на пациента	NAME	Идентификационен номер	ID#	Дата	DATE	Техник	TECH
Сфера	BEAD	Клас I	CLI	Клас II	CLII	Граница	CUT-OFF
Фон	BKG	Антиген	AG	Среден интензитет на флуоресценция	MFI	Интерпретация	INTRP
Сфера за отрицателна контрола	NC	Сфера за положителна контрола (имуноглобулин G)	PC	Дата на кървене	BDT	ИД на антиген	ANTIGEN ID
Най-ниско класиран антиген	LRA	Праг на среден интензитет на флуоресценция/ Най-ниско класиран антиген	MFI/LRA	Предупреждение		Действителни граници	OBSERVED LIMITS
Относителна плътност на антиген	RAD	Серологичен еквивалент	SERO				

Ключ: Подчертано = Допълнение или значителна промяна; ▲ = Изтриване на текст

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

LIFECODES LSA™ Клас I и Клас II са имунотестове на база сфери, които се използват за качествено откриване на HLA IgG антитела.

РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ

Човешките левкоцитни антигени (HLA) представляват система от гликопротеини, които играят функционална роля за представянето на пептидите в имунната система.^{1,2} В качеството си на силно полиморфна система, обаче, HLA молекулите могат да се превърнат в мишени за реакции на антитела у хората по време на бременност, преливане на кръвни продукти или отхвърляне на трансплантиран орган. Обикновено имунизацията с алоантиген води до производството на HLA антитела у около 33% от незащитените индивиди.³ Наличието или липсата на тези HLA-специфични антитела играе роля за оцеляването на трансплантирани алографти.⁴

LIFECODES LSA™ Клас I сферите са предназначени за откриване на IgG антитела към HLA Клас I гликопротеини. LSA Клас I се състои от различни Lumipex сфери, към които се конюгира пречистени рекомбинантни Клас I HLA гликопротеини.

LIFECODES LSA™ Клас II сферите са предназначени за откриване на IgG антитела към HLA Клас II гликопротеини. LSA Клас II се състои от различни Lumipex сфери, към които се конюгира пречистени рекомбинантни Клас II HLA гликопротеини.

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Допуска се аликвота на сферите за инкубиране с малка проба от тестов серум. Сенсibiliзираните сфери след това се измиват за отстраняване на свободното антитяло. След това се добавя античовешко IgG антитяло, конюгирано с фикоеритрин. След още една инкубация тестовата проба се разтваря и се анализира с апарата Lumipex. Силата на сигнала от всяка сфера се сравнява със силата на сигнала на най-ниско класираната, специфична за локуса сфера, включена при подготовката на сферите, за да се определи дали сферата е положителна или отрицателна за свързано алоантияло.

РЕАГЕНТИ

А. Идентификация

265100: LSA1 LIFECODES LSA™ Клас I съдържа пет (5) компонента в количества, достатъчни за 24 теста.

1. **265103** **LSA1B** **LSA Клас I смес от сфери** (960 µL): Смес от сфери, всяка от които е конюгирана с различен единичен Клас I HLA гликопротеин плюс контролни сфери. Буферът за съхранение е буфер на база фосфат, съдържащ NaCl, Tween-20, натриев азид и говежди протеини. ЧУВСТВИТЕЛЕН КЪМ СВЕТЛИНА. Ограничавайте излагането на светлина до три часа или по-малко. **Съхранявайте при температура ≤ -65°C на тъмно.**
2. **265002** **LSACJ** **LSA концентриран конюгат** (120µL): Кози античовешки IgG, конюгиран с фикоеритрин в буфер за съхранение на база фосфат, съдържащ NaCl, Tween-20 и натриев азид. **DIL** ТРЯБВА ДА СЕ РАЗТВОРИ в съотношение 1:10 в буфер за промиване преди употреба. ЧУВСТВИТЕЛЕН КЪМ СВЕТЛИНА. Дръжте далеч от директна светлина за продължителни периоди от време. **Съхранявайте на тъмно, при температура от 2 до 8°C.**
3. **628221** **LMWB** **LIFECODES буфер за промиване** (30 mL): Буфер на база фосфат, съдържащ NaCl, Tween-20, натриев азид и говежди серумен албумин. **Съхранявайте при температура от 2 до 8°C** и го оставете да достигне стайна температура (от 20 до 24°C) преди употреба.
4. **265101** **LSAPC1** **LSA Клас I положителна контрола** (100 µL): Този серум или смес от серуми е получен от индивид(и), показали алоимунизация към HLA антигени, и ще реагира с повечето LSA Клас I сфери. Съдържа 0,1% натриев азид като консервант. **Съхранявайте при температура от 2 до 8°C.**
5. **265102** **LSANC1** **LSA Клас I отрицателна контрола** (100 µL): Този серум или смес от серуми е получен от индивид(и), за които е известно, че нямат антитела към HLA антигени, и ще реагира с малък брой LSA Клас I сфери. Съдържа 0,1% натриев азид като консервант. **Съхранявайте при температура от 2 до 8°C.**

265200: LSA2 LIFECODES LSA™ Клас II съдържа пет (5) компонента в количества, достатъчни за 24 теста.

1. **265203** **LSA2B** **LSA Клас II смес от сфери** (960 µL): Смес от сфери, всяка от които е конюгирана с различен единичен Клас II HLA гликопротеин плюс контролни сфери. Буферът за съхранение е буфер на база фосфат, съдържащ NaCl, Tween-20, натриев азид, говежди протеини. ЧУВСТВИТЕЛЕН КЪМ СВЕТЛИНА. Ограничавайте излагането на светлина до три часа или по-малко. **Съхранявайте при температура ≤ -65°C на тъмно**
2. **265010** **LSACJ** **LSA концентриран конюгат** (120µL): Кози античовешки IgG, конюгиран с фикоеритрин в буфер за съхранение на база фосфат, съдържащ NaCl, Tween-20 и натриев азид. **DIL** ТРЯБВА ДА СЕ РАЗТВОРИ в съотношение 1:10 в буфер за промиване преди употреба. ЧУВСТВИТЕЛЕН КЪМ СВЕТЛИНА. Дръжте далеч от директна светлина за продължителни периоди от време. **Съхранявайте на тъмно място, при температура от 2 до 8°C.**
3. **628221** **LMWB** **LIFECODES буфер за промиване** (30 mL): Буфер на база фосфат, съдържащ NaCl, Tween-20, натриев азид и говежди серумен албумин. **Съхранявайте при температура от 2 до 8°C** и го оставете да достигне стайна температура (от 20 до 24°C) преди употреба.
4. **265201** **LSAPC2** **LSA Клас II положителна контрола** (100 µL): Този серум или смес от серуми е получен от индивид(и), показали алоимунизация към HLA антигени, и ще реагира с повечето LSA Клас II сфери. Съдържа 0,1% натриев азид като консервант. **Съхранявайте при температура от 2 до 8°C.**
5. **265202** **LSANC2** **LSA Клас II отрицателна контрола** (100 µL): Този серум или смес от серуми е получен от индивид(и), за които е известно, че нямат антитела към HLA антигени, и ще реагира с малък брой LSA Клас II сфери. Съдържа 0,1% натриев азид като консервант. **Съхранявайте при температура от 2 до 8°C.**

Ключ: Подчертано = Допълнение или значителна промяна; ▲ = Изтриване на текст

Б. Предупреждения и предпазни мерки

1. За ин витро диагностика
2. Използваният за производството на този комплект човешки изходен материал е бил тестван чрез одобрени от АХЛ методи и е показал отрицателен резултат за антитяло към човешки имунодефицитен вирус (HIV), HCV и HBsAg. Въпреки това, нито един метод на тестване не може да даде пълна гаранция за липса на инфекциозни агенти. Следователно, **спазвайте универсални предпазни мерки** при работа с тези материали.
3. Замяната на предоставените в този комплект компоненти с други може да доведе до получаване на погрешни резултати.
4. Реагентите съдържат 0,1% натриев азид като консервант, който може да влезе в реакция с оловни и медни водопроводни тръби и да образува експлозивни метални азиди. Използвайте големи количества вода, когато изхвърляте материали в мивка.
5. Бактериалното замърсяване на пробите или присъствието на имунни комплекси, или други съединения на имуноглобулин може да доведе до увеличено неспецифично свързване и получаване на погрешни резултати.
6. Този продукт открива IgG антитела, които могат да бъдат или да не бъдат лимфоцитотоксични.
7. От този продукт не се очаква да открива антитела на имуноглобулин клас IgA или IgM.
8. Определянето на наличието или липсата на антитела към HLA не е единствената основа за вземане на клинично решение, засягащо лечението на пациент. Преди трансплантация обикновено се прави окончателен тест за съвместимост.
9. Тези продукти са предназначени за използване с апарата Luminex според препоръките на производителя.
10. Изхвърляйте материалите след употреба в съответствие с местните разпоредби.
11. Вижте информационните листове за безопасност за допълнителна информация.

В. Инструкции за съхранение

1. Вижте указанията за съхранение върху етикетите на продуктите.
2. Сферите и конюгата са ЧУВСТВИТЕЛНИ КЪМ СВЕТЛИНА. Ограничавайте излагането на светлина до три часа или по-малко.

Г. Пречистване или обработка, необходими за употреба

1. Вижте раздела „Вземане и подготовка на проби“.
2. Концентрираният конюгат трябва да се разтвори в съотношение 1:10 в буфер за промиване преди употреба.

Д. Показания за нестабилност

1. Не използвайте компоненти или контроли, които са мътни или с изтекъл срок на годност.
2. Изхвърляйте всички неизползвани разтворени положителни и отрицателни контроли и конюгати след употреба.

ИЗИСКВАНИЯ КЪМ АПАРАТА

Апарат Luminex и XY платформа (продуктов номер на Lifecodes 888300, 888302) или Luminex FLEXMAP 3D (артикулен номер на LIFECODES 888303.)

ВЗЕМАНЕ И ПОДГОТОВКА НА ПРОБИ

Вземането на кръв се извършва без антикоагулант, с помощта на асептична техника. Кръвта трябва да бъде тествана, докато е още прясна, за да се минимизира вероятността от получаване на лъжлива положителна или лъжлива отрицателна реакция в резултат на неправилно съхранение или замърсяване на пробата. Серумът трябва да се съхранява при температура от 2 до 8°C в продължение на не повече от 48 часа. Ако серумът трябва да се съхранява над 48 часа, той трябва бъде замразен при температура -20°C или по-ниска за период до 2 години. Отделните лаборатории трябва да въведат и утвърдят методи за съхранение на серуми за срок над 2 години. Серумът трябва да бъде отделен от еритроцити при съхранение или транспортиране. Избягвайте повтарящо се замразяване и размразяване на серумни проби.

Не използвайте микробиологично замърсени, хемолизирани или липемични серуми, тъй като такива проби могат да дадат противоречиви резултати.

Преди извършването на тест всички проби трябва да се разбъркат с вортекс-миксер и да се центрофугират за кратко (30 секунди при 10 000xg) за утаяване на всякакви твърди частици, които могат да присъстват.

ПРОЦЕДУРА

A. Предоставени материали (вижте раздела РЕАГЕНТИ на страница 2 за по-подробна информация)

- LSA сфери
- Концентриран конюгат
- Буфер за промиване
- Серум за положителна контрола
- Серум за отрицателна контрола
- Работна таблица
- Таблица за форматиране на табла

B. Необходими, но не предоставени материали, реагенти и оборудване (каквито са изброени или аналогични)

- 5 µL – 50 µL регулируеми пипети със съответните накрайници
- 250 µL многоканална пипета със съответните накрайници и корито за буфер
- 1,5 mL микроцентрофугални епруветки за разтваряне на конюгат
- Тестови епруветки за проби от пациент и контролни проби
- Таймер
- Маркер
- Millipore Multiscreen филтърни табли (Millipore каталожен № MSBVN1210, MSBVN1250; Lifecodes каталожен № 888633 или 888633-50)
- Вакуумен колектор Multiscreen (Millipore каталожен № MAVM 0960R, Qiagen каталожен № 19504, Lifecodes каталожен № 888315)
- Luminex Sheath течност (Lifecodes каталожен № 628005)
- Luminex китове за калибриране (кит за калибриране Luminex 100/200, кит за проверка на работата Luminex 100/200, Lifecodes каталожни номера 628018 и 628019 съответно)
- или китове за калибриране FLEXMAP 3D (кит за калибриране Luminex FLEXMAP 3D, кит за проверка на експлоатационните параметри Luminex FLEXMAP 3D, съответно Lifecodes кат. № 888307 и 888308)
- Дестилирана вода
- Въртяща се платформа
- Лепящи се пластмасови капачета (Corning каталожен № 6524 или 6570)

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ:

- ТРЯБВА да внимавате да не замърсите буфера за промиване и античовешкия IgG реагент. Непреднамерено замърсяване на тези реагенти с човешки серум ще доведе до неутрализация на античовешкия IgG и последващо неуспешно тестване.
 - Трябва да контролирате силата на вакуума. Силното вакуумно налягане може да накара сферите да залепнат към мембраната и да доведат до неуспешно преброяване на сферите.
 - Необходимо е внимание по време на пипетирането във филтърната табла, така че сферите да не залепнат към страните на микроямките. Сферите трябва да се пипетират в ямките като се внимава да не докосват мембраната с накрайника. Допирът на накрайника на пипетата до мембраната може да доведе до пробиването ѝ и последващ неуспех на теста.
 - По време на инкубиране трябва да внимавате сферите да не изпръскат и да не залепнат към стените на ямките. При провеждане на теста за пръв път, направете няколко положителни и/или отрицателни контроли, за да определите оптималната скорост за въртящата се платформа или вортекс-миксера. Скорост от приблизително 200 завъртания в минута с размер на орбита 19 mm е ефективна за апаратите.
 - Наличието на значителни нива свободни антитела при приключването на стъпката промиване, поради прекалено голямо количество серум или недостатъчно промиване, може да понижи способността на теста за откриване на IgG свързване към сенсibiliзирани сфери и да покаже грешни резултати.
 - Всеки тест трябва да включва серумна проба за положителна и отрицателна контрола, за да може да се определи появата на техническа грешка или неуспешна реакция на реагент.
 - Тестът се валидира с 10µL серум (Протокол 1) и 20µL серум (Протокол 2).
1. Извадете LSA сместа от сфери от фризера и я съхранявайте на тъмно, при стайна температура до размразяването ѝ. След това я поставете върху лед и защитете от светлина. **ЗАБЕЛЕЖКА: Сместа от сфери може да се замразява и размразява максимум 6 пъти, без това да повлияе на функционирането ѝ, както е посочено в инструкциите за използване по предназначение.**
 2. Оставете другите компоненти на тъмно, при температура от 2 до 8°C, както се изисква, и оставете буфера за промиване да достигне стайна температура (от 20 до 24°C) преди употреба. През това време използвайте таблицата за форматиране на таблата, за да зададете позиция за всеки един серум и всяка една контрола, които ще бъдат анализирани. Предоставените в комплекта контролни серуми се използват за илюстриране на широко реактивен положителен алосерум и отрицателен серум.
 3. Затворете ямките на филтърната табла без позиции с лепящите се пластмасови капачета. Навлажнете предварително ямките, които ще се използват, с 100-300 µL дестилирана вода. След от 2 до 5 минути отстранете водата чрез плавна аспирация с помощта на вакуумния колектор. (Вижте препоръките на производителя за правилна употреба).
 4. Подгответе LSA сферите, като за кратко (30 секунди) центрофугирате флакона при 600 – 800 x g, за да отстраните всички сфери или следи от течност от капачето или стените на флакона. Разбъркайте с вортекс-миксер (за около 1 минута) за равномерно повторно суспендиране на сферите.
 5. Добавете 40 µL LSA сфери към всяка от ямките с присвоени позиции. Разбърквайте отново с вортекс-миксер флакона с LSA сфери на всеки 2 минути, за да поддържате сферите суспендирани, докато ги разпределяте; след това добавете 10 µL серум от пациент и контролен серум (Протокол 1) или 20 µL серум от пациент и контролен серум (Протокол 2) и смесете.

ВНИМАНИЕ: Важно е да поддържате сферите суспендирани, за да се гарантира аликвотно разпределяне на достатъчно сфери в ямките и необходимостта от малко време за броене. Ако не разбърквате периодично сферите, те ще се утаят на дъното на епруветката. Това ще доведе до разпределяне на диференциално количество сфери в ямките, което може да повлияе значително върху времето за работа и анализ на резултатите.

6. Покрийте таблата с лепящото се пластмасово капаче, след това я обвийте с фолио или я поставете в кутия, за да я предпазите от достъп на светлина. Инкубирайте 30 минути при стайна температура (от 20 до 24°C) на тъмно, върху въртяща се платформа. Върнете неизползваните порции контролен серум за съхранение при температура от 2 до 8°C. Върнете неизползваните порции LSA смес от сфери за съхранение при температура $\leq -65^{\circ}\text{C}$ на тъмно.
7. Разтворете конюгата с буфер за промиване (5 μL конюгат на 45 μL буфер за проба). За да се справите със загубите при пипетиране, желателно е да направите един (1) допълнителен обем разтворен конюгат. Покрийте с фолио и/или съхранявайте до употребата на тъмно, при стайна температура. Върнете неизползваната порция концентриран конюгат за съхранение на тъмно, при температура от 2 до 8°C.
8. След 30 минути инкубация свалете пластмасовия капак и добавете 100 μL буфер за промиване във всяка ямка. Смесете за повторно суспендиране на сферите и плавно аспирирайте таблата.

ВНИМАНИЕ: Прекалената сила на вакуум ще доведе до залепване на сферите към мембраната и неуспех на пробата. Прилагайте минималното вакуумно налягане, необходимо за аспириране на пробите.

9. Добавете 250 μL буфер за промиване във всяка ямка, смесете за повторно суспендиране на сферите, аспирирайте и повторете още два пъти за общо три промивания.

ВНИМАНИЕ: Недостатъчното промиване може да понижи способността на конюгата за откриване на IgG свързване към сенсibiliзирани сфери и да покаже лъжливи отрицателни резултати.

10. Добавете 50 μL разтворен конюгат във всяка ямка. Покрийте таблата с фолио или я поставете в кутия, за да я предпазите от достъпа на светлина. Поставете я върху въртящата се платформа (задайте 200 завъртания в минута) или плавно разбърквайте с вортекс-миксер на всеки 5-10 минути. Инкубирайте за 30 минути при стайна температура (от 20 до 24°C).
11. Използвайки чист накрайник на пипета, добавете 130 – 150 μL буфер за промиване във всяка ямка и смесете за повторно суспендиране на сферите.
12. Съберете данни с апарата Luminex, като спазвате препоръките на производителя. Закъснения над 3 часа могат да увеличат вероятността за получаване на лъжливи положителни или лъжливи отрицателни реакции. Върнете неизползваната порция буфер за промиване за съхранение при температура от 2 до 8°C.

РЕЗУЛТАТИ

Запишете некоригираните стойности на средния интензитет на флуоресценция (MFI) за всяка сфера в специфичната за всяка партия работна таблица. За да определите дали сферата е положителна, първо определете дали MFI за всяка свързана с антиген сфера е над прага за MFI, който може да откриете в специфичната за всяка партия работна таблица, предоставена към комплекта. Ако свързана с антиген сфера е над прага за MFI, разделете MFI на MFI на най-ниско класирания антиген (LRA) от съответния локус, за да получите съотношението MFI/Най-ниско класиран антиген (MFI/LRA). LRA за всеки локус е MFI стойността на най-ниско класирана сфера с антиген за този локус.

Пример : $\frac{\text{MFI на отделна сфера}}{\text{LRA MFI за локус "1"}} = \text{MFI/LRA за антиген "x" от локус "1"}$

$\frac{\text{MFI на отделна сфера}}{\text{LRA MFI за локус "2"}} = \text{MFI/LRA за антиген "y" от локус "2"}$

$\frac{\text{MFI на отделна сфера}}{\text{LRA MFI за локус "3"}} = \text{MFI/LRA за антиген "z" от локус "3"}$

Вижте в специфичната за всяка партия работна таблица, предоставена към комплекта, списъка с антигени, налични за всяка сфера, и границата, за да определите положителния/отрицателния резултат за всяка свързана с антиген сфера. Свързана с антиген сфера се смята за положителна, ако MFI стойността е над прага за MFI и съотношението MFI/LRA е над граничната стойност.

КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Качественият контрол на LSA Клас I и Клас II е вграден в теста чрез включването на серуми за положителна и отрицателна контрола. Тези контроли трябва да се включват във всеки един тест, за да може да се определи появата на техническа грешка или неуспешни реакции на реагенти. Серумът за положителна контрола ще реагира с голям брой HLA конюгирани сфери, генерирайки шаблон, подобен на този в специфичната за всяка партия работна таблица. Серумът за отрицателна контрола ще реагира с малък, или никакъв брой HLA конюгирани сфери, генерирайки обикновено некоригирани MFI стойности под ≤ 1000 MFI.

Комплектите сфери включват контролни сфери за следене на проявата на всяка една проба. Сферата за положителна контрола е с покритие от човешки IgG и би трябвало да покаже MFI стойности $> 10\,000$ за контролните серуми. Ако получите стойности, по-малки от $10\,000$ MFI за контролните серуми, вероятно тестът не е бил достатъчно промит или конюгатът е компроментиран. Пациентските проби могат да показват широк диапазон на реактивност спрямо сферите за положителна контрола (вж. Специфични работни характеристики при наблюдаваните диапазони за сферите за положителна контрола по време на клинични изпитвания). ▲ Вижте в специфичната за всяка партия работна таблица наблюдаваните граници за контролните сфери с контролния серум.

Тестът трябва да се извърши така, както е препоръчано в листовката, както и да се проведат всички други процедури за контрол на качеството в съответствие с изискванията на местните, държавните, федералните и/или органите за акредитация.

Ключ: Подчертано = Допълнение или значителна промяна; ▲ = Изтриване на текст

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

Грешни резултати могат да се появят в резултат на бактериално замърсяване на тестовите материали, неподходящи периоди на инкубация, недостатъчно промиване или декантиране на сферите, излагането на конюгата на светлина или пропускането на тестови реагенти или стъпки от процедурата.

Наличието на имунни комплекси или други съединения на имуноглобулин в пробата от пациент може да доведе до увеличено неспецифично свързване и да покаже грешни резултати от този тест.

За LSA комплектите, откритите антитела са тези, които са реактивни в рамките на популацията от налични антигени, изброени в работната таблица.

LIFECODES единичен антиген HLA Клас I и II глюкопротеини бяха получени от клетъчни линии, експресиращи единични HLA антигени.

Някои IgG с нисък авидитет или нисък титър, IgA, IgM и моноспецифични антитела към антигени, не включени в панела, няма да бъдат открити чрез тестовете на LIFECODES за единичен антиген.

Серумните титри на антитела са специфични по отношение на пациентите и времето. Ако голям брой сфери произвеждат MFI стойности над 15000, може да се наложи да разтворите серумите за по-добро откриване на IgG антитела.

Поради комплексната природа на HLA тестването, интерпретацията на данните трябва да бъде прегледана от квалифициран персонал. Определянето на специфичността на антияло с използване на LSA комплекти трябва да отчита резултатите от всички сфери, включително тези, които са на границата или близо до гранична стойност. Познаването на историята на заболяването на пациента, както и познанията за групи с кръстосана реактивност, могат да бъдат полезни при присвояването на специфичност към специфичен серум.

ОТСТРАНЯВАНЕ НА ПРОБЛЕМИ

ПРОБЛЕМ	ВЪЗМОЖНА ПРИЧИНА	РЕШЕНИЕ
Малък брой сфери	Сместа от сфери не е добре суспендирана	Използвайте вортекс-миксер за повторно суспендиране
	Апарата не функционира – не е калибриран	Вижте ръководството за апарата
	Апарата не функционира – блокиран поток на проби	Вижте ръководството за апарата
	Обезцветени от светлина сфери	Използвайте нов комплект
	Прекалено силно вакуумно налягане/сферите залепват към мембраната	Намалете силата на вакуума; за филтърните табли Millipore Multiscreen се препоръчва вакуум 271-406 милибара (8-12 инча живачен стълб)
Преминат е прагът на сфера за отрицателна контрола (NC) с контролен серум	Лошо промиване	Повторете и проследете промиванията
	Добавена е грешна проба	Повторете с правилна контролна проба
Преминат е прагът на сфера за положителна контрола (PC) с контролен серум	Компрометиран конюгат, напр. обезцветен от светлина	Използвайте нов комплект
	Лошо промиване	Повторете и проследете промиванията
	Добавена е грешна проба	Повторете с правилна контролна проба
Аномален шаблон на серуми за положителна контрола	Добавена е грешна проба	Повторете с правилна контролна проба
	Лошо промиване	Повторете и проследете промиванията
Положителна оценка на серум за отрицателна контрола (>2 HLA конюгирани сфери) или >1000 MFI.	Добавена е грешна проба	Повторете с правилна контролна проба
	Лошо промиване	Повторете и проследете промиванията, за да се уверите, че сферите са повторно суспендирани по време на промиването Намалете силата на вакуума
	Замърсяване на сместа от сфери, буфера за промиване, серума за отрицателна контрола или концентрирания конюгат с положителна проба	Използвайте нов комплект
Запушена филтърна табла	Нехомогенни частици в пробата	Центрофугирайте пробата около 5 минути при 8,000 – 12,000xg

СПЕЦИФИЧНИ РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когато LIFECODES LSA китове са използвани съгласно описаната процедура, резултатите разкриват присъствието или отсъствието на HLA IgG антитела. Клиничното тестване използва граничните стойности по подразбиране LABScreen, резултати >4 се смятат за положителни.

LSA Клас I

LIFECODES LSA Клас I кит показва 93,7% (93,4%) съвпадение за 151 проби със съвпадащи антигени, сравнени с резултатите, получени с използването на LABScreen единичен антиген HLA Клас I- комби, каталожен № LS1A04 (едностранна най-ниска граница на 95% доверителен интервал). Наблюдаваните стойности на сферата за положителна контрола в това изпитване са в диапазона 20 015 – 24 036 MFI.

LSA Клас II

Китът LIFECODES LSA Клас II показва 90,5% (89,9%) съвпадение за 150 проби със съвпадащи каталожен № # LS2A01 (едностранна най-ниска граница на 95% доверителен интервал). Наблюдаваният диапазон за сферите за положителна контрола в това изпитване е 15 442 – 20 563 MFI.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klein, J, Sato, A. The HLA System. N. Engl. J. Med. 2000; 343:702 and 343:782.
2. Parham, P. The Immune System. Garland Publishing, N.Y. and London. 2000; 55.
3. Rodey, GE. HLA Beyond Tears (2nd Edition). 2000; 163.
4. McKenna, RM; Takemoto, SK; Terasaki, PI. Anti-HLA Antibodies after Solid Organ Transplantation. Transplantation 2000; 69:319.

ОТОРИЗИРАН ПРЕДСТАВИТЕЛ

Оторизиран представител: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Германия
Тел.: +49 (0)6103 80560, факс.: +49 (0) 6103 8056199

Европейска техническа служба: +32/3 385 47 91

Публикувано: 2019-08-15

