

Dokumentace a jazykové verze jsou k dispozici na: www.immucor.com

PŘÍBALOVÝ LETÁK

LIFECODES LSA™ I. třída: Screeningový test Luminex® pro kvalitativní detekci protilátek IgG reagujících s HLA molekulami I. třídy.

LIFECODES LSA™ II. třída: Screeningový test Luminex® pro kvalitativní detekci protilátek IgG reagujících s HLA molekulami I. třídy.


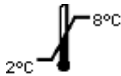

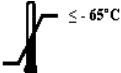




Test pro diagnostiku in vitro

OBSAH

Definici symbolů.....	1	Postup.....	3
Účel použití.....	2	A. Dodané materiály.....	3
Souhrn a vysvětlení.....	2	B. Materiály, které nejsou dodány.....	3
Princip postupu.....	2	Návod k použití.....	4
Reagencie.....	2	Výsledky.....	5
A. Identifikace.....	2	Kontrola kvality.....	5
B. Varování a upozornění.....	3	Omezení postupu.....	5
C. Pokyny k uskladnění.....	3	Řešení problémů.....	6
D. Purifikace a aplikace.....	3	Zvláštní chování.....	6
E. Znamky nestability.....	3	Bibliografie.....	6
Požadavky na nástroje.....	3		
Odběr a příprava vzorku.....	3		

DEFINICE SYMBOLŮ

(Označení výrobku a doplňující dokumentace)

Číslo šarže	LOT	Katalogové číslo	REF	Použitelné do		Teplotní rozsah (skladování)	
VZOREK	SAMPLE	Výrobce		Práh MFI	MFI TH	Teplota (skladování)	
Před použitím naředit	DIL	Výrobek je citlivý na světlo (Chraňte před světlem)		Množství pro N testů		Viz návod k použití	
Jméno pacienta	NAME	Identifikační číslo	ID#	Date	DATE	Technik	TECH
Kulička	BEAD	I. třída	CLI	II. třída	CLII	Mez	CUT-OFF
Pozadí	BKG	Antigen	AG	Medián intenzity fluorescen ce	MFI	Vyhodnocení	INTRP
Kuličky pro negativní kontrolu	NC	Kuličky pro pozitivní kontrolu (Imunoglobulin G)	PC	Datum krvácení	BDT	Identifikační číslo antigenu	ANTIGEN ID
Nejnižší hodnocený antigen	LRA	MFI / Nejnižší hodnocený antigen	MFI/LRA	Varování		Pozorované limity	OBSERVED LIMITS
Relativní antigenová hodnota	RAD	Serologický ekvivalent	SERO				

ÚČEL POUŽITÍ

LIFECODES LSA™ I. a II. třídy jsou imunotesty na bázi kuliček, určené ke kvalitativní detekci protilátek IgG reagujících s HLA.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Lidské leukocytární antigeny (HLA) představují systém glykoproteinů, které mají funkční roli při uvádění peptidů do imunitního systému.^{1,2} Jakožto vysoce polymorfní systém se však mohou molekuly HLA stát terčem reakcí protilátek u člověka během těhotenství, při transfúzi krevních produktů, nebo v případě odmítnutí transplantovaného orgánu. Obecně vede aloimunitizace k produkci HLA protilátek u přibližně 33 % postižených jedinců.³ Přítomnost nebo nepřítomnost těchto HLA specifických protilátek je důležitá při určování přežití aloimplantátů.⁴

Kuličky LIFECODES LSA™ I. třídy jsou určeny k detekci IgG protilátek reagujících na HLA glykoproteiny I. třídy. LSA I. třídy se skládá z různých kuliček Luminex, na které jsou navázány čištěné rekombinantní HLA glykoproteiny I. třídy.

Kuličky LIFECODES LSA™ II. třídy jsou určeny k detekci IgG protilátek reagujících s HLA glykoproteiny II. třídy. LSA II. třídy se skládá z různých kuliček Luminex, na které jsou navázány čištěné rekombinantní HLA glykoproteiny II. třídy.

PRINCIP POSTUPU

V malém množství vzorku testovacího séra inkubujeme poměrný podíl kuliček. Senzibilizované kuličky poté opláchneme, abychom odstranili nenavázané protilátky. Následně přidáme anti-lidské IgG protilátky konjugované s fykoerytrinem. Po další inkubaci je vzorek naředěn a analyzován pomocí nástroje Luminex. **Intenzita signálu z každé kuličky je srovnána s intenzitou signálu nejnižší hodnocené kuličky se specifickým lokusem obsažené v preparátu z kuliček, aby bylo možné určit, zda je kulička pozitivní nebo negativní z hlediska vázaných aloprotilátek.**

REAGENCIE

A. Identifikace

265100: [LSA1] LIFECODES LSA™ I. třídy obsahuje pět (5) složek s dostatečným množstvím pro 24 testů.

- 265103 [LSA1B] Směs kuliček LSA I. třídy (960 µl):** Směs kuliček konjugovaných s rozdílnými glykoproteiny I. třídy HLA plus kontrolní kuličky. Skladovací pufr je fosfátový pufr obsahující NaCl, Tween-20, azid sodný a hovězí proteiny. VÝROBEK JE CITLIVÝ NA SVĚTLO. Zajistěte, aby byla běžná doba vystavení světlu kratší než tři hodiny. **Skladujte při teplotě ≤ -65°C na tmavém místě.**
- 265002 [LSACJ] Koncentrát konjugátu LSA (120 µl):** Kozí anti-lidské IgG konjugované s fykoerytrinem ve fosfátovém skladovacím pufru s obsahem NaCl, Tween-20 a azidu sodného. **DIL** Před použitím NUTNĚ NAŘEDIT promývacím pufrům v poměru 1:10. VÝROBEK JE CITLIVÝ NA SVĚTLO. Zabraňte delšímu vystavení světlu. Uchovávejte na tmavém místě při 2 °C až 8 °C.
- 628221 [LMWB] Promývací pufr LIFECODES (30 ml):** Pufr na bázi fosfátů s obsahem NaCl, Tween-20, azidu sodného a boviného sérového albuminu. Skladujte při teplotě 2 až 8°C a před použitím nechte oteplít na pokojovou teplotu (20-24°C).
- 265101 [LSAPC1] Pozitivní kontrola LSA I. třída (100 µl):** Toto sérum (směs sér) je získáváno z jedinců s prokázanou aloimunitou proti antigenům HLA a bude reagovat s většinou kuliček LSA I. třídy. Obsahuje 0,1 % azidu sodného (konzervační látka). Uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C.
- 265102 [LSANC1] Negativní kontrola LSA I. třída (100 µl):** Toto sérum (směs sér) je získáváno z jedinců, u nichž nebyly prokázány žádné protilátky proti antigenům HLA a bude reagovat s minimálním množstvím kuliček LSA I. třídy nebo s žádnými kuličkami. Obsahuje 0,1 % azidu sodného (konzervační látka). Uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C.

265200: [LSA2] LIFECODES LSA™ II. třídy obsahuje pět (5) složek s dostatečným množstvím pro 24 testů.

- 265203 [LSA2B] Směs kuliček LSA II. třídy (960 µl):** Směs kuliček konjugovaných s rozdílnými glykoproteiny II. třídy HLA plus kontrolní kuličky. Skladovací pufr je fosfátový pufr obsahující NaCl, Tween-20, azid sodný a hovězí proteiny. VÝROBEK JE CITLIVÝ NA SVĚTLO. Zajistěte, aby byla běžná doba vystavení světlu kratší než tři hodiny. **Skladujte při teplotě ≤ -65°C na tmavém místě.**
- 265002 [LSACJ] Koncentrát konjugátu LSA (120 µl):** Kozí anti-lidské IgG konjugované s fykoerytrinem ve fosfátovém skladovacím pufru s obsahem NaCl, Tween-20 a azidu sodného. **DIL** Před použitím NUTNĚ NAŘEDIT promývacím pufrům v poměru 1:10. VÝROBEK JE CITLIVÝ NA SVĚTLO. Zabraňte delšímu vystavení světlu. Uchovávejte na tmavém místě při 2 °C až 8 °C.
- 628221 [LMWB] Promývací pufr LIFECODES (30 ml):** Pufr na bázi fosfátů s obsahem NaCl, Tween-20, azidu sodného a boviného sérového albuminu. Skladujte při teplotě 2 až 8°C a před použitím nechte oteplít na pokojovou teplotu (20-24°C).
- 265201 [LSAPC2] Pozitivní kontrola LSA II. třída (100 µl):** Toto sérum (směs sér) je získáváno z jedinců s prokázanou aloimunitou proti antigenům HLA a bude reagovat s většinou kuliček LSA II. třídy. Obsahuje 0,1 % azidu sodného (konzervační látka). Uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C.
- 265202 [LSANC2] Negativní kontrola LSA II. třída (100 µl):** Toto sérum (směs sér) je získáváno z jedinců, u nichž nebyly prokázány žádné protilátky proti antigenům HLA a bude reagovat s minimálním množstvím kuliček LSA II. třídy nebo s žádnými kuličkami. Obsahuje 0,1 % azidu sodného (konzervační látka). Uchovávejte při teplotě 2 °C až 8 °C.

B. VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

1. Test pro diagnostiku in vitro
2. U lidského materiálu použitého k přípravě této sady byla prostřednictvím testovacích metod schválených FDA zjištěna negativita protilátek proti HIV, HCV a HBsAg. Žádná testovací metoda však nemůže jistě potvrdit nepřítomnost infekčních agens. Dodržujte proto při práci s těmito materiály **obecná bezpečnostní opatření**.
3. Nahrazení komponent tohoto systému jinými komponentami může mít za následek neplatné výsledky.
4. Reagencie obsahují 0,1 % azidu sodného (konzervační látka), který může reagovat s olověným a měděným potrubím a dát vznik výbušným azidům kovů. Při vylévání materiálu do odpadu použijte velké množství vody k jeho spláchnutí.
5. Bakteriální kontaminace vzorku nebo přítomnost imunokomplexů a jiných imunoglobulinů mohou mít za následek zvýšený výskyt nespecifických vazeb a tím pádem i neplatný výsledek.
6. Tento produkt zajišťuje detekci protilátek IgG, které mohou, ale nemusí být lymfocytotoxické.
7. Tento produkt není určen k detekci protilátek třídy IgA ani IgM.
8. Stanovení přítomnosti nebo nepřítomnosti protilátek HLA není jediným kritériem pro učinění klinického rozhodnutí o léčbě pacienta. Před provedením transplantace je běžně prováděna konečná křížová zkouška.
9. Tyto produkty jsou určeny k použití s nástrojem Luminex v souladu s doporučeními výrobce.
10. Likvidace všech materiálů musí být provedena v souladu s místními nařízeními.
11. Více informací naleznete v Bezpečnostním listu materiálu.

C. Pokyny k uskladnění

1. Při skladování se řiďte informacemi uvedenými na výrobku.
2. Kuličky a konjugát jsou CITLIVÉ NA SVĚTLO. Zajistěte, aby byla doba vystavení světlu kratší než 3 hodiny.

D. Purifikace a aplikace

1. Viz „Odběr a příprava vzorku“.
2. Konjugát musí být před použitím naředěn promývacím pufrům v poměru 1:10.

E. Znamky nestability

1. Nepoužívejte komponenty ani kontroly, které jsou zakalené nebo s prošlým datem trvanlivosti.
2. Zlikvidujte všechny nepoužité zředěné pozitivní a negativní kontroly.

POŽADAVKY NA NÁSTROJE

Nástroj Luminex a platforma XY (Lifecodes, výrobní číslo 888300, 888302)

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Odběr krevních vzorků musí být proveden bez antikoagulantů pomocí aseptické techniky, a jejich testování musí být provedeno v čerstvém stavu, aby byla šance na získání falešně pozitivních nebo falešně negativních výsledků, způsobených nevhodným skladováním či kontaminací vzorku, minimální. Sérum může být skladováno při teplotě 2 °C až 8 °C maximálně 48 hodin. V případě, že potřebujete uchovat sérum déle než 48 hodin, je třeba jej zmrazit při teplotě nižší než -20 °C v případě uskladnění po dobu delší než 2 roky. Laboratoř musí vytvořit a schválit metody skladování séra po dobu delší než 2 roky. Sérum musí být skladováno a přepravováno mimo dosah červených krvinek. Zabraňte opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků séra.

Nepoužívejte mikrobiálně kontaminovaná, hemolyzovaná ani lipemická séra, získané vzorky by mohly podat nejednotné výsledky.

Před zahájením testu musí být všechny vzorky promíchány krouživým pohybem a krátce odstředěny (30 vteřin při 10 000 xg), aby byly odstraněny všechny případné hrudky.

POSTUP

A. Dodané materiály (více informací viz REAGENCIE, str.2)

- Kuličky LSA
- Koncentrát konjugátu
- Promývací pufr
- Pozitivní kontrolní sérum
- Negativní kontrolní sérum
- Záznamový list
- List ve formě destičky

B. Materiály, reagencie a požadované materiály, které nejsou součástí soupravy

(viz seznam nebo odpovídající produkty)

- Nastavitelné pipety 5 µl - 50 µl s odpovídajícími špičkami
- Multikanálové pipety 250 µl s odpovídajícími špičkami
- Mikrocentrifugační zkumavky 1,5 ml pro zředění konjugátu
- Testovací zkumavky pro vzorky pacienta a kontrolní vzorky
- Časový měřič
- Značkovácí pero
- Filtrační destičky Millipore Multiscreen (Millipore, katalog. č. MSBVN1210, MSBVN1250; Lifecodes, katalog. č. 888633 nebo 888633-50)
- Podtlaková odsávačka Multiscreen (Millipore, katalog. č. MAVM 0960R, Qiagen, katalog. č. 19504, Lifecodes, katalog. č. 888315)
- Nosná kapalina Luminex (Lifecodes, katalog. č. 628005)
- Kalibrační sady Luminex (kalibrační sada Luminex 100/200, ověřovací sada Luminex 100/200, Lifecodes, katalog. č. 628018 a 628019)
- Destilovaná voda
- Třepačka s deskovým adaptérem
- Přílnavé plastové kryty (Corning, katalog. č. 6524 nebo 6570)

NÁVOD K POUŽITÍ

VAROVÁNÍ:

- Zvláštní pozornost je NUTNÉ věnovat zabránění kontaminace promývacího pufru a reagensů anti-lidského IgG. Náhodná kontaminace těchto reagensů lidským sérem má za následek neutralizaci anti-lidského IgG a neúspěšný test.
- Zvýšenou pozornost je třeba věnovat síle podtlaku. Příliš silný podtlak může způsobit přilepení kuliček k membráně a tím pádem i jejich nesprávný počet.
- Během pipetování na filtrační destičku dbejte na to, aby se kuličky nepřilepily na stěny jamek mikrodestičky. Kuličky pipetujte do roztoku, který jste předem umístili do jamek, aniž by se špičky dotýkaly membrány. Kontakt membrány se špičkou pipety může mít za následek propíchnutí membrány a tím pádem i neúspěšný test.
- Během inkubace je třeba zabránit tomu, aby se kuličky rozstříkly a přilepily na stěny jamek. V případě, že provádíte test poprvé, proveďte několik pozitivních a/nebo negativních kontrol, které vám umožní stanovit optimální rychlost rotační platformy nebo třepačky. Rychlost cca 200 otáček za minutu s velikostí trajektorie 19mm se prokázala být účinnou při použití s některými nástroji.
- Přítomnost významného množství nenavázaných protilátek po dokončení promývání, způsobená příliš velkým množstvím séra nebo nedostatečným promytím, může mít za následek snížení schopnosti detekce IgG navázaných na kuličky a tím pádem i neplatný výsledek.
- Každý test by měl být doprovázen vzorkem pozitivní a negativní kontroly, který umožní stanovit případný výskyt technické chyby nebo neúspěšnou reakci.
- **Test je ověřen pomocí 10µL séra (Protokol 1) a 20µL séra (Protokol 2).**

1. Vytáhněte směs kuliček LSA z mrazáku a uložte ji na tmavé místo při pokojové teplotě až do rozmrazení. Poté směs umístěte na led a chraňte před světlem. **POZNÁMKA: Směs kuliček je možné zmrazit a rozmrazit nejméně 6krát, aniž by došlo k jejich znehodnocení, viz Účel použití.**
2. Ostatní komponenty odložte až do jejich použití na tmavé místo při teplotě 2 °C až 8 °C, promývací pufr nechte před použitím ustálat na pokojovou teplotu (20 °C až 24 °C). Během toho použijte list ve formě destičky a jednotlivým sérum a kontrolám připraveným k rozboru přiřaďte polohu na destičce. Kontrolní séra, která jsou součástí sady, slouží jako ukázka široce reaktivního pozitivního aloséra a negativního séra.
3. Nevyužité jamky filtrační destičky pokryjte lepícím plastovým krytem. Poté navlhčete jamky, které budou použity, 100-300 µl destilované vody. Po uplynutí 2-5 minut odstraňte vodu lehkým odsáním pomocí podtlakové odsávačky. (Viz návod použití výrobce).
4. LSA kuličky připravte krátkým (30 vteřin) odstředěním ampulky při 600 - 800 xg, abyste odstranili kuličky a tekutinu z víčka a stěn ampulky. Důkladně protřepejte (~1 minutu), aby se kuličky rovnoměrně rozmístily.
5. Do každé přiřazené destičky přidejte 40 µl LSA kuliček. **Opětovně promíchejte ampulku s LSA kuličkami každé 2 minuty, aby kuličky zůstaly v roztoku během jejich distribuování, následně přidejte 10 µL séra pacienta a kontrolního séra (Protokol 1) nebo 20 µL séra pacienta a kontrolního séra (Protokol 2) a promíchejte.**

UPOZORNĚNÍ: Je důležité nechat kuličky rozptýlit, aby beze zbytku obsadily jamky a usnadnily tak výpočty. V případě, že nebudou kuličky průběžně protřepávány, zůstanou na dně zkumavky. To bude mít za následek umístění různých počtů kuliček v jamkách, což může nepříznivě ovlivnit výpočty a rozbor výsledků.

6. Pokryjte destičku přilnavým plastovým krytem a poté fólií nebo víkem, aby byla chráněna před světlem. **Inkubujte po dobu 30 minut při pokojové teplotě (20°C až 24°C) na tmavém místě pomocí rotační platformy.** Nevyužité dávky kontrolního séra a kuliček uchovejte pro budoucí použití při teplotě 2°C až 8°C. Nepoužité kuličky LSA uložte na tmavé místo při teplotě ≤ -65°C pro budoucí použití.
7. Konjugát naředte promývacím pufrem a uložte na tmavém místě (5 µl konjugátu na 45 µl promývacího pufru na jeden vzorek). Pro případ ztrát při pipetování doporučujeme vyrobit jeden (1) objem naředěného konjugátu navíc. Pokryjte fólií a/nebo nechte na tmavém místě při pokojové teplotě až do okamžiku použití. Nevyužité dávky koncentrovaného konjugátu uchovejte pro budoucí použití na tmavém místě při teplotě 2°C až 8°C.
8. Po 30 minutách inkubace sejměte plastový kryt a do každé jamky přidejte 100 µl promývacího pufru. Promíchejte, aby se kuličky rozptýlily a jemně odsajte destičku.

UPOZORNĚNÍ: Příliš vysoká podtlaková síla způsobí přilepení kuliček k membráně, což může mít za následek neplatný vzorek. Při odsávání vzorku vynakládejte co nejmenší podtlakovou sílu.

9. Přidejte 250 µl promývacího pufru do každé jamky, promíchejte, aby se kuličky rozptýlily, odsajte a opakujte ještě dvakrát, aby bylo promýváním provedeno celkem třikrát.

UPOZORNĚNÍ: Nedostatečné promytí může mít za následek snížení schopnosti konjugátu detekovat IgG vazby na senzibilizované kuličky a způsobit falešně negativní výsledky.

10. Do každé jamky přidejte 50 µl naředěného konjugátu. Destičku přikryjte fólií nebo víkem, aby byla chráněna před světlem. Umístěte na rotační platformu (nastavit na 200 otáček za minutu) nebo jemně míchejte kruživým pohybem každých 5-10 minut. Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě (20 °C až 24 °C).
11. Pomocí čisté pipetovací špičky umístěte do každé jamky 130-150 µl promývacího pufru a promíchejte kuličky, aby se rozptýlily.
12. Pomocí nástroje Luminex proveďte sběr dat v souladu s pokyny výrobce. Po 3 hodinách se zvyšuje šance, že získáte falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky. Nevyužitou dávku promývacího pufru uskladněte pro budoucí použití při teplotě 2 °C až 8 °C.

VÝSLEDKY

Zadejte základní medián intenzity fluorescence (MFI) pro každou kuličku do pracovního listu pro konkrétní sadu. Chcete-li zjistit, zda je kulička pozitivní, nejdříve stanovte, zda se MFI pro každou kuličku s navázaným antigenem pohybuje nad prahovou hodnotou MFI, kterou naleznete v pracovním listu pro konkrétní sadu, jenž byl přibalen. Je-li kulička s navázaným antigenem nad prahovou hodnotou MFI, rozdělte MFI podle nejnižší hodnoceného antigenu (LRA) MFI příslušného lokusu, abyste zjistili poměr MFI/nejnižší hodnoceného antigenu (MFI/LRA). LRA pro každý lokus je hodnota MFI nejnižší hodnocené antigenové kuličky pro daný lokus.

Příklad : $\frac{\text{MFI jedné kuličky}}{\text{LRA MFI pro lokus „1“}} = \text{MFI/LRA pro antigen „x“ z lokusu „1“}$

$\frac{\text{MFI jedné kuličky}}{\text{LRA MFI pro lokus „2“}} = \text{MFI/LRA pro antigen „y“ z lokusu „2“}$

$\frac{\text{MFI jedné kuličky}}{\text{LRA MFI pro lokus „3“}} = \text{MFI/LRA pro antigen „z“ z lokusu „3“}$

Podívejte se do pracovního listu pro danou sadu, který je k sadě přiložen, na seznam antigenů přítomných u jednotlivých kuliček a mez pro stanovení pozitivního/negativního výsledku u jednotlivých kuliček s navázaným antigenem. Kulička s navázaným antigenem se považuje za pozitivní, pokud se hodnota MFI pohybuje nad prahovou hodnotou MFI a poměr MFI/LRA nad hraniční hodnotou.

KONTROLA KVALITY

Kontrola kvality I. a II. třídy LSA je součástí testovacího systému v podobě séra pro pozitivní a negativní kontrolu. Tyto kontroly by měly být součástí každého testu, aby bylo možno stanovit případný výskyt technické chyby nebo neúspěšnou reakci. **Positivní kontrolní sérum bude reagovat s velkým množstvím HLA konjugovaných kuliček a vytvoří vzorec odpovídající vzorci v pracovním listě pro danou sadu.** Negativní kontrolní sérum bude reagovat jen s několika HLA konjugovanými kuličkami, nebo s žádnou, přičemž budou většinou vygenerovány hrubé hodnoty MFI ≤ 1000 MFI.

Sady kuliček obsahují kontrolní kuličky určené ke sledování projevů jednotlivých vzorků. Kulička pro pozitivní kontrolu je potažena lidským IgG a měla by dosáhnout hodnot MFI $\geq 10\,000$ s kontrolním sérem. Pokud získáte hodnoty nižší než $10\,000$ MFI s kontrolním sérem, může to být způsobeno nedostatečným propláchnutím vzorku nebo slabým konjugátem. **Vzorky pacientů vykazují širokou škálu reaktivity u pozitivní kontrolní kuličky, ale měli by generovat signál $\geq 10\,000$ MFI.** Negativní kontrolní kulička by měla vykazovat nízkou MFI u kontrolního séra. Viz pracovní list pro danou sadu pro sledování limitů pro kontrolní kuličky u kontrolního séra.

Test by měl být proveden v souladu s pokyny uvedenými v příbalovém letáku a dále v souladu s dalšími postupy kontroly kvality podle místních, státních a federálních požadavků a/nebo požadavků akreditačních úřadů.

OMEZENÍ POSTUPU

Chybné výsledky mohou být způsobeny bakteriální kontaminací testovacího materiálu, nedodržением inkubačních dob, nedostatečným promýváním, usazením kuliček, vystavením konjugátu přímému světlu, nepřidáním testovacích reagentů nebo nedodržением jednotlivých kroků.

Přítomnost imunokomplexů a jiných imunoglobulinů ve vzorku pacienta může mít za následek zvýšený výskyt nespecifických vazeb a tím pádem i neplatný výsledek testu.

Pro sady LSA jsou detekované protilátky ty, které reagují v populaci dostupných antigenů uvedených v záznamovém listě.

Glykoproteiny HLA LIFECODES Single Antigen I. a II. třídy byly získány z buněčných linií vykazujících jeden antigen HLA.

Některé IgG s nízkou příbuzností či nižšími titry, IgA, IgM a monospecifické protilátky proti antigenům, které nejsou součástí panelu, nebudou v rámci testů LIFECODES Single Antigen detekovány.

Titry protilátek séra jsou závislé na pacientu a na daném okamžiku. V případě, že velké množství kuliček produkuje hodnoty MFI vyšší než $15\,000$, může být nutné sérum naředit a usnadnit tak detekci protilátek IgG.

S ohledem na složitou povahu testování HLA by měla být interpretace dat provedena a ověřena zkušenými pracovníky. Při určení specifčnosti protilátky pomocí sad LSA je třeba brát v potaz výsledky všech kuliček, včetně kuliček vykazujících hodnotu rovnou nebo blízkou se mezní hodnotě. Povědomí o anamnéze pacienta a porozumění křížení skupin mohou pomoci při stanovení specifčnosti konkrétního séra.

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

PROBLÉM	MOŽNÁ PŘÍČINA	ŘEŠENÍ
Nízký počet kuliček	Směs kuliček nebyla správně promíchána	Promíchejte krouživým pohybem, aby se kuličky důkladně promísily
	Špatná funkce nástroje - špatná kalibrace	Viz návod použití nástroje
	Špatná funkce nástroje - vzorek zablokován	Viz návod použití nástroje
	Osvícené kuličky	Použijte novou sadu
	Příliš velká síla podtlaku/kuličky se lepí na membránu	Snižte sílu podtlaku; doporučují se multiskříninové filtrační destičky Millipore a vakuum 271-406 millibarů (8-12 v Hg)
Negativní kontrolní kulička (NC) Práh překonán u kontrolního séra	Nedostatečné promytí	Zopakujte se správným kontrolním vzorkem
	Byl přidán nesprávný vzorek	Zopakujte se správným kontrolním vzorkem
Pozitivní kontrolní kulička (NC) Práh nebyl překonán u kontrolního séra	Narušený konjugát, např. fotobělením	Použijte novou sadu
	Nedostatečné promytí	Zopakujte a sledujte promývání
	Byl přidán nesprávný vzorek	Zopakujte se správným kontrolním vzorkem
Pozitivní kontrolní kulička (NC) Práh nebyl překonán u vzorku pacienta	Narušený konjugát, např. fotobělením	Použijte novou sadu
	Nedostatečné promytí	Zopakujte a sledujte promývání
Neobvyklý vzorec pro pozitivní kontrolní sérum	Byl přidán nesprávný vzorek	Proveďte znovu se správným kontrolním vzorkem
	Nedostatečné promytí	Opakujte a sledujte promývání
		Snižte sílu podtlaku
Pozitivní přiřazení pro negativní kontrolní sérum (>2 HLA konjugované kuličky) nebo >1000 MFI.	Byl přidán nesprávný vzorek	Zopakujte se správným kontrolním vzorkem
	Nedostatečné promytí	Zopakujte a sledujte promývání, abyste se ujistili, že kuličky jsou během promývání ponořeny Snižte sílu vakuu
	Kontaminace směsi kuliček, promývací pufr, negativní kontrolní sérum nebo koncentrát konjugátu s pozitivním vzorkem	Použijte novou sadu
Ucpaná filtrační destička	Do vzorku se dostaly částice	Vzorek odstředování, cca 5 minut při 8000 – 12000xg

ZVLÁŠTNÍ CHOVÁNÍ

Pokud jsou sady LIFECODES LSA použity v souladu s uvedeným postupem, prokáží výsledky přítomnost nebo nepřítomnost HLA protilátek třídy IgG. Klinické testy používají přednastavené mezní hodnoty LABScreen. Za pozitivní se považují hodnoty >4.

LSA třída I

Sada LIFECODES LSA I. třídy prokázala 93.7% (93.4%) shodu pro 151 vzorků se shodujícími se antigeny ve srovnání s výsledky dosaženými pomocí LABScreen jednoho antigenu, HLA I. třídy, Kombi, kat. č. LS1A04 (jednostranný 95% nižší mez spolehlivosti).

LSA třída II

Sada LIFECODES LSA II. třídy prokázala 90.5% (89.9%) shodu pro 150 vzorků se shodujícími se antigeny ve srovnání s výsledky dosaženými pomocí LABScreen jednoho antigenu, HLA II. třídy, Skupina 1, kat. č. LS2A01 (jednostranný 95% nižší mez spolehlivosti).

BIBLIOGRAFIE

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

VÝROBCE A AUTORIZOVANÝ ZÁSTUPCE

Vyrobno: Pro Immucor Transplant Diagnostics, Inc., 550 West Avenue, Stamford, CT 06902 Spojené státy americké
Telefon: 855.IMMUCOR nebo 777.225.8790 (mezinárodní) 888-329-0255;
Fax: 001-203-328-9599

Autorizovaný zástupce: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303, Dreieich, Německo
Telefon: +49 (0)6103 80560, Fax: (+49) 6074-84 20-99

Technický servis pro Evropu: +32/3 385 47 91

Vydáno: Rev. 1, 2017-leden-24

