

Produktdokumentation og oversættelser kan hentes på: [www.immucor.com](http://www.immucor.com)

## PRODUKTINDLÆG

**LIFECODES LSA™ Class I:** En Luminex®-screeninganalyse til kvalitativ detektion af IgG-antistoffer mod HLA klasse I-molekyler.

**LIFECODES LSA™ Class II:** En Luminex®-screeningsanalyse til kvalitativ detektion af IgG-antistoffer mod HLA klasse II-molekyler.

Til *in vitro*-diagnostik

### INDHOLDSFORTEGNELSE

<b>Definition af symboler</b> .....	<b>1</b>	<b>Procedure</b> .....	<b>3</b>
<b>Tilslaget brug</b> .....	<b>2</b>	A. Vedlagte materialer.....	<b>3</b>
<b>Principper for proceduren</b> .....	<b>2</b>	B. Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt.....	<b>3</b>
<b>Reagenser</b> .....	<b>2</b>	<b>Brugsanvisning</b> .....	<b>4</b>
A. Identifikation.....	2	<b>Resultater</b> .....	<b>5</b>
B. Advarsler og forholdsregler.....	3	<b>Kvalitetskontrol</b> .....	<b>5</b>
C. Opbevaringsinstruktioner.....	3	<b>Procedurens begrænsninger</b> .....	<b>5</b>
D. Oprensning eller behandling til brug.....	3	<b>Fejlfinding</b> .....	<b>6</b>
E. Indikationer for ustabilitet.....	3	<b>Specifikke egenskaber for performance</b> ....	<b>6</b>
<b>Instrumentkrav</b> .....	<b>3</b>	<b>Referencer</b> .....	<b>6</b>
<b>Prøvetagning og forberedelse</b> .....	<b>3</b>		

### DEFINITION AF SYMBOLER

(Produktmærkning og supplerende dokumenter)

Lotnummer	<b>LOT</b>	Katalognummer	<b>REF</b>	Holdbar til		Temperaturinterval (opbevaring)	
Prøve	<b>PRØVE</b>	Producent		MFI-tærskel	<b>MFI TH</b>	Temperatur (opbevaring)	
Fortyndes før brug	<b>DIL</b>	Lysfølsom (Skal beskyttes mod lys)		Tilstrækkeligt til N tests		Se brugsanvisning	
Patientnavn	<b>NAVN</b>	Identifikationsnr.	<b>ID nr.</b>	Dato	<b>DATO</b>	Tekniker	<b>TECH</b>
Perle	<b>BEAD</b>	Klasse I	<b>CLI</b>	Klasse II	<b>CLII</b>	cut-off-værdien	<b>CUT-OFF</b>
Baggrund	<b>BKG</b>	Antigen	<b>AG</b>	Gennemsnitlig fluorescensintensitet	<b>MFI</b>	Fortolkning	<b>INTRP</b>
Negativ kontrolperle	<b>NC</b>	Positiv kontrolperle (Immunglobulin G)	<b>PC</b>	Prøvetagningsdato	<b>BDT</b>	Antigen ID	<b>ANTIGEN-ID</b>
Lavest rangerede antigen	<b>LRA</b>	MFI / Lavest rangerede antigen	<b>MFI/LRA</b>	Advarsel		Observerede grænser	<b>OBSERVEREDE GRÆNSER</b>
Relativ massefylde af antigen	<b>RAD</b>	Serologisk ækvivalent	<b>SERO</b>				

Forklaring: Understregt = Tilføjelse eller væsentlig ændring; ▲ = Sletning af teks

## TILSIGTET BRUG

LIFECODES LSA™ Class I og Class II ID er perle-baserede immunanalyser til kvalitativ detektion af HLA IgG-antistoffer.

## OVERSIGT OG FORKLARING

Humane leukocytantigener (HLA) er et system af glycoproteiner, der har en funktionel rolle i præsentationen af peptider over for immunsystemet.<sup>1,2</sup> Men som et meget polymorft system kan HLA-molekyler udsættes for antistofreaktioner hos personer, der er gravide, ved transfusion af blodprodukter eller transplantatafstødning. Generelt fører alloimmunisering til en produktion af HLA-antistoffer hos ca. 33 % af de eksponerede personer.<sup>3</sup> Tilstedeværelsen eller fraværet af disse HLA-specifikke antistoffer spiller en rolle, når overlevelsen af allotransplantationer skal bestemmes.<sup>4</sup>

LIFECODES LSA™ Class I ID perler er udviklet til at påvise IgG-antistoffer mod HLA klasse I-glycoproteiner. LSA Class I ID består af forskellige Luminex-perler, hvortil beslægtede, oprensede HLA klasse I-glycoproteiner konjugeres.

LIFECODES LSA™ Class II ID perler er udviklet til at påvise IgG-antistoffer mod HLA klasse II-glycoproteiner. LSA Class II består af forskellige Luminex-perler, hvortil beslægtede, oprensede HLA klasse II-glycoproteiner konjugeres.

## PRINCIPPER FOR PROCEDUREN

En afmålt mængde perler inkuberes med en lille mængde testserumprøve. De sensibiliserede perler vaskes derefter for at fjerne ubundet antistof. Derefter tilsættes et phycoerythrin-konjugeret anti-Human IgG-antistof. Efter endnu en inkubation fortyndes testprøven og analyseres på Luminex-instrumentet. Signalintensiteten fra hver perle sammenlignes med signalintensiteten fra den lavest rangerede locusspecifikke perle, der er inkluderet i perleklargøringen, for at bestemme, hvorvidt perlen er positiv eller negativ for bundet alloantistof.

## REAGENSER

### A. Identifikation

**265100: LSA1 LIFECODES LSA™ Class I består af fem (5) komponenter i mængder, der er tilstrækkelige til 24 test.**

1. **265103 LSA1B LSA Class I-perleblanding** (960 µl): En blanding af perler, der hver er konjugeret med et forskelligt HLA klasse I-glycoprotein samt kontrolperler. Opbevaringsbufferen er en fosfatbaseret buffer, der indeholder NaCl, Tween-20, natriumazid og bovine proteiner. LYSFØLSOM. Sørg for, at arbejdet højest udsættes for lys i tre timer. **Opbevares ved ≤ -65 °C i mørke.**
2. **265002 LSACJ LSA konjugatkoncentrat** (120µl): Phycoerythrin-konjugeret ged anti-human IgG i en fosfatbaseret opbevaringsbuffer, der indeholder NaCl, Tween-20 og natriumazid. **DIL** SKAL FORTYNDES 1: 10 med vaskebuffer før brug. LYSFØLSOM. Må ikke udsættes for direkte lys i længere tid ad gangen. **Opbevares ved 2 til 8 °C i mørke.**
3. **628221 LMWB LIFECODES vaskebuffer** (30 ml): En fosfatbaseret buffer, der indeholder NaCl, Tween-20, natriumazid og bovint serumalbumin. **Opbevares ved 2 til 8 °C og skal henstå til den har opnået stuetemperatur (20-24 °C) før brug.**
4. **265101 LSAPC1 LSA Class I positiv kontrol** (100 µl): Dette serum eller serumblandingen er taget fra individ(er), som har vist sig at være alloimmuniserede for HLA-antigener og vil reagere med de fleste LSA Class I-perler. Indeholder 0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel. **Opbevares ved 2 til 8 °C.**
5. **265102 LSANC1 LSA Class I negativ kontrol** (100 µl): Dette serum eller serumblandingen er taget fra individ(er), som har vist sig ikke at have antistoffer over for HLA-antigener og vil reagere med ingen eller få LSA Class I-perler. Indeholder 0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel. **Opbevares ved 2 til 8 °C.**

**265200: LSA2 LIFECODES LSA™ Class II består af fem (5) komponenter i mængder, der er tilstrækkelige til 24 test.**

1. **265203 LSA2B LSA Class II-perleblanding** (960 µl): En blanding af perler, der hver er konjugeret med et forskelligt HLA klasse II-glycoprotein samt kontrolperler. Opbevaringsbufferen er en fosfatbaseret buffer, der indeholder NaCl, Tween-20, natriumazid og bovine proteiner. LYSFØLSOM. Sørg for, at arbejdet højest udsættes for lys i tre timer. **Opbevares ved ≤ -65 °C i mørke.**
2. **265010 LSACJ LSA konjugatkoncentrat** (120µl): Phycoerythrin-konjugeret ged anti-human IgG i en fosfatbaseret opbevaringsbuffer, der indeholder NaCl, Tween-20 og natriumazid. **DIL** SKAL FORTYNDES 1: 10 med vaskebuffer før brug. LYSFØLSOM. Må ikke udsættes for direkte lys i længere tid ad gangen. **Opbevares ved 2 til 8 °C i mørke.**
3. **628221 LMWB LIFECODES vaskebuffer** (30 ml): En fosfatbaseret buffer, der indeholder NaCl, Tween-20, natriumazid og bovint serumalbumin. **Opbevares ved 2 til 8 °C og skal henstå til den har opnået stuetemperatur (20-24 °C) før brug.**
4. **265201 LSAPC2 LSA Class II positiv kontrol** (100 µl): Dette serum eller serumblandingen er taget fra individ(er), som har vist sig at være alloimmuniserede for HLA-antigener og vil reagere med de fleste LSA Class II-perler. Indeholder 0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel. **Opbevares ved 2 til 8 °C.**
5. **2651202 LSANC2 LSA Class II negativ kontrol** (100 µl): Dette serum eller serumblandingen er taget fra individ(er), som har vist sig ikke at have antistoffer over for HLA-antigener og vil reagere med ingen eller få LSA Class II-perler. Indeholder 0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel. **Opbevares ved 2 til 8 °C.**

## B. Advarsler eller forholdsregler

1. Til in vitro-diagnostik.
2. Humant kildemateriale anvendt til produktionen af dette kit er blevet testet og fundet negativt for antistoffer mod HIV, HCV og HBsAg i hht. FDA-godkendte metoder. Ingen testmetoder kan dog helt udelukke, at der er smitsomme stoffer til stede. Der skal derfor træffes **universelle sikkerhedsforanstaltninger** under arbejdet med disse materialer.
3. Udskiftning af komponenter med andre end dem, der følger med dette system, kan føre til fejlagtige resultater.
4. Reagenser indeholder 0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel, som kan reagere med bly- og kobberinstallationer og danne eksplosive metalazider. Brug store mængder vand, hvis materialerne hældes ud i vasken.
5. Bakteriekontaminering af prøver eller tilstedeværelse af immunkomplekser eller andre immunglobulinforbindelser kan medføre forhøjet uspecifik binding og fejlagtige resultater.
6. Dette produkt påviser IgG-antistoffer, som muligvis eller muligvis ikke er lymfocytotoksiske.
7. Dette produkt forventes ikke at kunne påvise antistoffer fra klassen af IgA- eller IgM-immunglobuliner.
8. Bestemmelsen af tilstedeværelse eller fravær af antistoffer over for HLA er ikke det eneste grundlag for en klinisk beslutning med hensyn til en patientbehandling. Der foretages rutinemæssigt en endelig crossmatch før transplantation.
9. Disse produkter er udviklet til brug med Luminex-instrumentet i hht. producentens anbefalinger.
10. Bortskaffelse af alle brugte materialer skal ske i overensstemmelse med lokale vedtægter.
11. Se sikkerhedsdatabladet for at få yderligere oplysninger.

## C. Opbevaringsinstruktioner

1. Se produktmærkningen for anvisninger til opbevaring.
2. Perler og konjugat er LYSFØLSOMT. Sørg for, at arbejdet højst udsættes for lys i tre timer.

## D. Oprensning eller nødvendig behandling til brug

1. Se "Prøvetagning og klargøring."
2. Konjugatkoncentrat skal fortyndes 1:10 med vaskebuffer inden anvendelse.

## E. Indikationer for ustabilitet

1. Brug ikke komponenter eller kontroller, der er grumsede, eller som har overskredet udløbsdatoen.
2. Kassér alle ubrugte, fortyndede positive og negative kontroller samt konjugater efter brug.

## INSTRUMENTKRAV

Luminex-instrument og XY platform (Lifecodes produktnummer 888300, 888302) eller Luminex FLEXMAP 3D (LIFECODES produktnummer 888303).

## PRØVETAGNING OG FORBEREDELSE

Blod skal indsamles uden antikoaguleringsmiddel med aseptisk teknik og bør afprøves, mens den er friske, at minimere risikoen for falske positive eller falske negative reaktioner tilskrives ukorrekt oplagring eller kontaminering af prøven. Serum skal opbevares ved 2-8 °C i højst 48 timer. Hvis serum skal opbevares i mere end 48 timer, skal det fryses ved eller under -20 °C i op til 2 år. Individuelle laboratorier bør etablere og validere metoder til lagring af sera for flere derefter 2 år. Serum skal være adskilt fra de røde blodlegemer under oplagring eller transport. Undgå gentagne indfrysning og optøning af serumprøver.

Brug ikke mikroskopisk kontaminerede, hæmolyserede, lipæmiske sera, da disse prøver kan udvise uensartede resultater.

Alle prøver bør omrystes og centrifugeres kort inden analysen (30 sekunder ved 10.000xg) for at granulere eventuelt partikulær substans, som måtte være til stede.

## PROCEDURE

### A. Vedlagte materialer (se afsnittet REAGENSER på side 2 for mere detaljerede oplysninger)

- LSA-perleblanding
- Konjugatkoncentrat
- Vaskebuffer
- Positivt kontrolserum
- Negativt kontrolserum
- Registreringsark
- Pladeformatark

### B. Nødvendige materialer, reagenser og udstyr, som ikke er vedlagt (som angivet på listen eller tilsvarende)

- 5 µl – 50 µl justerbare pipetter med tilhørende pipettespidser
- 250 µl multikanal-pipette med tilhørende spidser og bufferkar
- 1,5 ml mikrocentrifugerør til konjugatfortyndinger
- Testrør til patient- og kontrolprøver.
- Stopur
- Markeringspen
- Luminex Sheath-væske (Lifecodes kat. nr. 628005)
- Millipore multiscreen-filterplader (Millipore kat. nr. MSBVN1210, MSBVN1250; Lifecodes kat. nr. 888633 eller 888633-50)
- Multiscreen-vakuumanifold (Millipore, kat. nr. MAVM 0960R Qiagen kat. nr. 19504, Lifecodes kat. nr. 888315)
- Luminex-kalibreringskit (Luminex 100/200 kalibreringskit, Luminex 100/200 Kit til verificering af performance, Lifecodes henholdsvis kat. nr. 628018 og 628019)
- FLEXMAP 3D kalibreringsudstyr (Luminex FLEXMAP 3D kalibreringssæt, Luminex FLEXMAP 3D testset til resultatkontrol, Lifecodes kategorierne 888307 hhv. 888308).
- Destilleret vand
- Roterende platform
- Selvklæbende plastikfilm (Corning, kat. nr. 6524 eller 6570)

## BRUGSANVISNING

### FORHOLDSREGLER:

- Der SKAL udvises forsigtighed for at undgå kontaminering af vaskebuffer og anti-human IgG-reagenset. Utsigtet kontamination af disse reagenser med humant serum vil medføre neutralisering af anti-human IgG og således resultere i testfejl.
- Der skal udvises forsigtighed for at regulere vakuumstyrken. Et kraftigt vakuumtryk kan medføre, at perlerne klæber til membranen og således forårsager fejl under tællingen af perler.
- Der skal udvises forsigtighed under pipettering i filterpladen, så perler ikke klæber sig til siden af mikropladebrøndene. Afpipetter perler i den opløsning, der allerede er til stede i brønden, og undgå, at spidsen rører ved membranen. Berøring af membranen med pipettespidsen kan føre til perforation af membranen og deraf følgende analysefejl.
- Der skal udvises forsigtighed under inkubationen for at sikre, at perlerne ikke stænkes op på og klæber til siderne af brøndene. Kør nogle få positive og/eller negative kontroller, når analysen køres første gang, for at bestemme den optimale hastighed for rotorplatformen eller vortexmixeren. En hastighed på ca. 200 omdrejninger pr. minut med en banestørrelse på 19 mm har vist sig at være effektiv med nogle instrumenter.
- Forekomsten af store mængder ubundet antistof ved afslutningen af vasketrinnet, som skyldes for store mængder serum eller en dårlig vask, kan reducere analysens evne til at påvise IgG bundet til de sensibiliserede perler og dermed give fejlagtige resultater.
- En prøve med positive og negative kontrolsera bør inkluderes med hver test som en hjælp til at afgøre, om der er opstået tekniske fejl eller reagensfejl.
- Analysen valideres med 10µl serum (Protokol 1) og 20µl serum (Protokol 2).

1. Tag LSA-perleblandingen ud af fryseren og opbevar den i mørke ved stuetemperatur, indtil den er optøet. Den skal derefter lægges på is og beskyttes mod lys. **BEMÆRK: Perleblandingen kan fryses og optøs mindst 6 gange uden at påvirke dens function.**
2. Lad vaskebufferen opnå stuetemperatur (20 til 24 °C), mens de øvrige komponenter opbevares ved 2 til 8 °C i mørke, indtil de skal bruges. Brug i mellemtiden pladeformatarket til at tildele en position på pladen til hver af de sera og kontroller, der skal analyseres. De kontrolsera, der følger med kittet, bruges til at illustrere et generelt reaktivt positivt alloserum og et negativt serum.
3. Dæk de ikke-tildelte brønde på filterpladen til med selvklæbende plastfilm. Fugt derefter de anvendte brønde med 100-300 µl destilleret vand. Fjern vandet efter 2-5 minutter ved forsigtigt at aspirere pladen vha. vakuumanifolden. (Se producentens anvisninger vedrørende korrekt brug.)
4. Klargør LSA-perlerne ved kort (30 sekunder) at centrifugere flasken ved 600 – 800 x g for at fjerne eventuelle perler eller væsken fra låget eller flaskens sider. Bland grundigt på vortexmixer (ca. 1 minut) for at genopslæmme perlerne ensartet.
5. Tilsæt 40 µl perleblending til hver af de anvendte brønde. Centrifuger flasken med LSA-perler igen på vortexmixeren hvert 2. minut for at holde perlerne opslæmmet, mens perlerne fordeles; tilsæt derefter 10 µl af patientens serum og kontrolsera (Protokol 1) eller 20 µl af patientens serum og kontrolsera (Protokol 2) og bland det.

**FORSIGTIG:** Det er vigtigt at holde perlerne genopslæmmet for at sikre, at der afmåles tilstrækkelige mængder perler i brøndene og for at sikre lave tælleperioder. Hvis perlerne ikke blandes på vortexmixer med mellemrum vil det få perlerne til at falde mod bunden af røret. Dette vil medføre en forskel i mængden af perler, der dispenseres i brøndene, og påvirke kørselstider og analysen af resultaterne negativt.

6. Dæk pladen til med selvklæbende plastfilm, og dæk den derpå med folie, eller sæt i skab for at beskytte den mod lys. Inkubér i 30 minutter ved stuetemperatur (20-24 °C) i mørke på en drejeplatform. Returnér ubrugte mængder kontrolsera til opbevaring ved 2 til 8 °C til senere brug. Returnér ubrugte mængder LSA perleblending til opbevaring ved ≤ -65 °C i mørke til senere brug.
7. Fortynd konjugat med vaskebuffer (5 µl konjugat til 45 µl vaskebuffer pr. prøve). For at tage hensyn til tab fra pipettering anbefales det at klargøre én (1) ekstra portion fortyndet konjugat. Dæk konjugatet til med folie, og/eller opbevar i mørke ved stuetemperatur, indtil det skal bruges. Returnér den ubrugte mængde konjugatkoncentrat til opbevaring ved 2 til 8 °C i mørke til senere brug.
8. Fjern plastikfilmen efter 30 minutters inkubation, og tilsæt 100 µl vaskebuffer i hver brønd. Bland for at genopslæmme perlerne, og aspirer pladen forsigtigt.

**FORSIGTIG:** Brug af for meget vakuumtryk vil medføre, at perlerne klæber til membranen og kan resultere i prøvefejl. Anvend det mindst mulige vakuum til aspiration af prøverne.

9. Tilsæt 250 µl vaskebuffer til hver brønd, bland for at genopslæmme perlerne, aspirer, og gentag yderligere to gange, i alt tre gange vask.

**FORSIGTIG:** Hvis der ikke vaskes helt, kan det formindske evnen for konjugatet at påvise IgG, der er bundet til sensibiliserede perler og forårsage fejlagtige negative resultater.

10. Tilsæt 50 µl fortyndet konjugat til hver brønd. Dæk pladen til med folie, eller stil den i skab for at beskytte den mod lys. Anbring den på en drejeplatform (indstillet til 200 omdrejninger pr. minut), eller bland forsigtigt på vortexmixer hvert 5. til 10. minut. Inkubér i 30 minutter ved stuetemperatur (20 til 24 °C).
11. Tilsæt 130 - 150 µl vaskebuffer til hver brønd med en ren pipettespids, og bland for at genopslæmme perlerne.
12. Indsaml data ved brug af Luminex-instrumentet ved at følge producentens anbefalinger. Forsinkelser på mere end 3 timer kan øge risikoen for falsk-positive eller falsk-negative reaktioner. Returnér den ubrugte mængde vaskebuffer til opbevaring ved 2 til 8 °C til senere brug.

## RESULTATER

**Angiv MFI-værdierne (rå gennemsnitlig fluorescensintensitet) for hver perle i det lotspecifikke registreringsark.** For at bestemme om en perle er positiv, skal det først bestemmes, hvorvidt MFI for hver antigen-bundet perle ligger over den MFI-tærskel, der findes på det lotspecifikke registreringsark, der leveres med kittet. Hvis en antigen-bundet perle ligger over MFI-tærsklen, skal MFI'en divideres med MFI'en for det lavest rangerede antigen (LRA) i dets respektive locus for at generere forholdet MFI/lavest rangerede antigen (MFI/LRA). LRA for hvert locus er MFI-værdien for den lavest rangerede antigenperle for det pågældende locus.

Eksempel:  $\frac{\text{MFI for individuel perle}}{\text{LRA MFI for locus "1"}} = \text{MFI/LRA for antigen "x" fra locus "1"}$

$\frac{\text{MFI for individuel perle}}{\text{LRA MFI for locus "2"}} = \text{MFI/LRA for antigen "y" fra locus "2"}$

$\frac{\text{MFI for individuel perle}}{\text{LRA MFI for locus "3"}} = \text{MFI/LRA for antigen "z" fra locus "3"}$

Se det lotspecifikke registreringsark, der leveres med kittet for listen over de antigener, der er tilstede på hver perle og cut-off for at bestemme det positive/negative resultat med hver antigen-bundet perle. En antigen-bundet perle anses for at være positiv, hvis MFI-værdien ligger over MFI-tærsklen og forholdet MFI/LRA ligger over cut-off-værdien.

## KVALITETSKONTROL

Kvalitetskontrol af LSA Class I og Class II er indbygget i testsystemet ved at medtage positive og negative kontrolsera. Disse kontroller skal medtages i hver testkørsel for at hjælpe med at afgøre, om der er opstået tekniske fejl eller reagensfejl. Den positive kontrolsera vil reagere med et stort antal HLA-konjugerede perler, hvilket genererer et mønster, der ligner det, som ses i det lotspecifikke registreringsark. De negative kontrolsera vil være negative og reagere med få om nogen af de HLA-konjugerede perler, hvilket genererer MFI værdier  $\leq 1000$  MFI.

Perlesættene omfatter kontrolperler til at monitorere hver prøves performance. Den positive kontrolperle er belagt med human IgG, og bør udvise MFI-værdier  $\geq 10.000$  med kontrolsera. Hvis du opnår værdier på under 10.000 MFI med kontrolsera, kan analysen være blevet vasket utilstrækkeligt, eller kvaliteten af konjugatet kan være svækket. Prøvemateriale fra patienter kan udvise stor forskel i reaktivitet med positivkontrollen (se Specifikke ydelsesegenskaber for observerede områder for positive kontrolperler under kliniske forsøg). ▲ Den negative kontrolperle bør vise lave MFI-værdier med kontrolsera. Se det lotspecifikke registreringsark vedr. overholdte grænser for kontrolperler med kontrolsera.

Analysen skal køres som anbefalet i indlægssedlen, og skal udføres med enhver anden kvalitetskontrollprocedure, der er i overensstemmelse med gældende retningslinjer eller akkrediteringskrav.

## PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Der kan opstå fejlagtige resultater som følge af bakteriel kontamination af testmaterialer, utilstrækkelige inkubationsperioder, utilstrækkelig vask eller dekantering af perler, udsættelse af konjugatet for spredt lys eller udeladelse af testreagenser eller proceduretrin.

Tilstedeværelsen af immunkomplekser eller andre immunglobulinaggregater i patientprøven kan medføre en forhøjet uspecifik binding og danne fejlagtige resultater i analysen.

I LSA-kits er de påviste antistoffer de antistoffer, der er reaktive i populationen af tilgængelige antigener vist på registreringsarket.

LIFECODES enkelt antigen HLA Class I og II glycoproteiner er hentet fra cellelinjer, der udtrykker enkelte HLA-antigener.

Visse antigener med lav aviditet, lavt titer, IgA-, IgM- og monospecifikke antistoffer over for antigener, der ikke er omfattede i dette panel, kan ikke påvises med LIFECODES enkelt antigenanalyser.

Serumantistoftiter er patient- og tidsspecifik. Hvis mange perler producerer MFI-værdier over 15.000, kan det være nødvendigt at fortynde sera'erne for bedre påvisning af IgG-antistoffer.

På grund af HLA-testens komplicerede beskaffenhed skal kvalificeret personale vurdere fortolkningen af data. Bestemmelsen af antistofspecifitet ved brug af LSA-kits skal tage resultaterne fra alle perler i betragtning, herunder resultater, der ligger ved eller nær cutoff-værdien. Kendskab til patientens anamnese samt forståelse af de krydsreaktive grupper kan være nyttige redskaber i forbindelse med specificiteten til et specifikt serum.

## FEJLFINDING

PROBLEM	MULIG ÅRSAG	LØSNING
Lav tælling af perler	Perleblanding ikke helt opslæmmet	Bland på vortexmixer for at genopslæmme fuldstændigt
	Instrumentfejl – forkert kalibrering	Se instrumentmanualen
	Instrumentfejl – prøvestrømmen er blokeret	Se instrumentmanualen
	Lysblegede perler	Brug et nyt kit
Negativ kontrolperles (NC) tærskel overskredet med kontrolsera	Vakuumptryk er for kraftigt/perler klæber til membranen	Reducér vakuumptrykket; det anbefales, at der ved brug af Millipore multiscreen-filterplader anvendes et vakuum på 271-406 millibar (8-12 in. Hg)
	Dårlig vask	Gentag og monitorér vaskene
▲ Positiv kontrolperles (PC) tærskel fejlede med kontrolsera	Forkert prøve tilsat	Gentag med korrekt kontrolprøve
	Kvaliteten af konjugatet kan være svækket, f.eks. fotoblekning	Brug nyt kit
Afvigende mønster for positive kontrolsera	Dårlig vask	Gentag og monitorér vaskene
	Forkert prøve tilsat	Gentag med korrekt kontrolprøve
Positiv tildeling for negativ kontrolsera (>2 HLA-konjugerede perler) eller >1000 MFI.	Forkert prøve tilsat	Gentag med korrekt kontrolprøve
	Dårlig vask	Gentag og monitorér vaskene
Tilstoppet filterplade	Forkert prøve tilsat	Gentag med korrekt kontrolprøve
	Dårlig vask	Gentag og monitorér vaskene for at sikre, at perlerne opslættes igen under vasken Reducér vakuumpstyrke
	Kontaminering af perleblanding, vaskebuffer, negativ kontrolsera eller konjugatkoncentrat med positiv prøve	Brug nyt kit
	Partikulær substanser i prøve	Centrifuger prøven ca. 5 minutter ved 8.000-12.000 x g

## SPECIFIKKE EGENSKABER FOR PERFORMANCE

Når LIFECODES LSA-kits bruges som i den beskrevne procedure, viser resultaterne tilstedeværelsen eller fraværet af HLA IgG-antistoffer. Ved k linisk testning blev der anvendt LABScreen standard cut-off-værdier, med scorer på >4, der anses for positive.

### LSA klasse I

LIFECODES LSA Class I-kit viste 93.7 % (93.4 %) overensstemmelse for 151 prøver med matchede antigener, når der sammenlignes med resultater, som indhentes ved brug af LABScreen enkelt antigen HLA Class I-kombi, kat. nr. LS1A04 (ensidet nedre konfidensgrænse på 95 %). Det observerede område for den positive kontrolperle i dette forsøg var 20.015 - 24.036 MFI (middelfluorescensintensitet).

### LSA klasse II

LIFECODES LSA Class II-kit viste 90.5% (89.9%) overensstemmelse for 150 prøver med matchede antigener, når der sammenlignes med resultater, som indhentes ved brug af LABScreen enkelt antigen HLA Class II-gruppe 1, kat. nr. LS2A01 (ensidet nedre konfidensgrænse på 95 %). Det observerede område for den positive kontrolperle i dette forsøg var 15.442 – 20.563 MFI (middelfluorescensintensitet).

## REFERENCER

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.

## AUTORISERET REPRÆSENTANT

**Autoriseret repræsentant:** Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Tyskland  
Tlf.: +49 (0)6103 80560, Fax: +49 (0) 6103 8056199

Teknisk service i Europa: +32/3 385 47 91

Udgivet: 2019-08-15

