

Documentación del producto y traducciones disponibles en: www.Immucor.com

FOLLETO INFORMATIVO DEL PRODUCTO

LIFECODES Clase I LSA™: es un ensayo cribado de Luminex® para detectar anticuerpos IgG reactivos al panel frente a moléculas HLA de clase I.

LIFECODES Clase II LSA™: es un ensayo cribado de Luminex® para detectar anticuerpos IgG reactivos al panel frente a moléculas HLA de clase II.

Para diagnóstico in vitro

ÍNDICE	
Definición de los símbolos.....	1
Uso.....	2
Resumen y explicación.....	2
Principios del procedimiento.....	2
Reactivos.....	2
A. Identificación.....	2
B. Advertencias y precauciones.....	3
C. Instrucciones de conservación.....	3
D. Purificación o tratamiento para su uso.....	3
E. Indicaciones de inestabilidad.....	3
Equipos necesarios.....	3
Recogida y preparación de las muestras.....	3
Procedimiento.....	3
A. Materiales suministrados.	3
B. Materiales necesarios, pero no suministrados.....	3
Instrucciones de uso.....	4
Resultados.....	5
Control de calidad.....	5
Limitaciones del procedimiento.....	5
Resolución de problemas.....	6
Características específicas de rendimiento.....	6
Referencias.....	6

DEFINICIÓN DE LOS SÍMBOLOS

(Etiquetas del producto y documentación suplementaria)

Código de lote		Número de referencia		Fecha de caducidad		Intervalo de temperaturas (almacenamiento)	
Muestra		Fabricante		Umbral de MFI		Temperatura (almacenamiento)	
Diluir antes de utilizar		Fotosensible (Proteger de la luz)		Suficiente para N pruebas		Consulte las instrucciones de uso	
Nombre del paciente		Número de identificación		Fecha		Técnico	
Microesfera		Clase I		Clase II		Valor de corte	
Fondo		Antígeno		La mediana de la intensidad de la fluorescencia		Interpretación	
Microesfera de control negativo		Microesfera de control positivo (Inmunoglobulina G)		Fecha de extracción de la muestra		Identificación del antígeno	
Antígeno de más baja clasificación		MFI / Antígeno de más baja clasificación		Advertencia		Límites observados	
Densidad de antígeno relativa		Equivalente serológico					

USO

LIFECODES Clase I y Clase II LSA™ son inmunoensayos basados en microesferas que se utilizan para detectar cualitativamente anticuerpos IgG frente a antígenos HLA.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los antígenos leucocíticos humanos (HLA) constituyen un sistema de glicoproteínas que desempeña un papel funcional en la presentación de péptidos al sistema inmunitario.^{1,2} Sin embargo, por tratarse de un sistema muy polimórfico, las moléculas HLA pueden convertirse en el blanco de respuestas humorales (de anticuerpos) durante el embarazo, la transfusión de hemoderivados o el rechazo a trasplantes de órganos. Por lo general, la aloinmunización conduce a la producción de anticuerpos anti-HLA aproximadamente en el 33% de los individuos expuestos.³ La presencia o ausencia de estos anticuerpos específicos anti-HLA es uno de los factores que determinan la supervivencia de los alotrasplantes.⁴

Las microesferas LIFECODES Clase I LSA™ se han ideado para detectar anticuerpos IgG frente a las glicoproteínas de HLA de clase I. LIFECODES Clase I LSA™ se compone de microesferas Luminex específicas conjugadas a glicoproteínas de HLA de clase I purificadas por afinidad.

Las microesferas LIFECODES Clase II LSA™ se han ideado para detectar anticuerpos IgG frente a las glicoproteínas de HLA de clase II. LIFECODES Clase II LSA™ se compone de microesferas Luminex específicas conjugadas a glicoproteínas de HLA de clase II purificadas por afinidad.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Se deja incubar una alícuota de las microesferas con un pequeño volumen de la muestra de suero problema. Seguidamente, se lavan las microesferas sensibilizadas para eliminar los anticuerpos que no se hayan fijado. Se añade luego un anticuerpo anti-IgG humana conjugado con ficoeritrina. Tras otra incubación, se diluye la muestra problema y se analiza en el aparato Luminex. Se compara la intensidad de la señal emitida por cada microesfera con la de la microesfera específica del locus de más baja calificación incluida en la preparación, para determinar si aquella es positiva o negativa en cuanto al aloanticuerpo unido.

REACTIVOS

A. Identificación

265100: LSA1 LIFECODES Clase I LSA™ consiste en cinco (5) componentes en cantidad suficiente para llevar a cabo 24 ensayos.

- 265103 LSA1B Mezcla de microesferas LSA de clase I (960 µL):** Mezcla de microesferas, cada una conjugada con una diferente glicoproteína de HLA de clase I más microesferas de control. El tampón de almacenamiento es un tampón de fosfato que contiene NaCl, Tween-20, azida sódica y proteínas bovinas. SENSIBLE A LA LUZ. No exponga, de forma rutinaria, el producto a la luz durante más de tres horas. **Consérvelo por debajo de ≤ 65°C en la oscuridad.**
- 265002 LSACJ Conjugado concentrado LSA (120µL):** Reserva de anticuerpos caprinos anti-IgG humana conjugados con ficoeritrina en un tampón fosfato de almacenamiento que contiene NaCl, Tween-20 y azida sódica. **DIL DEBE DILUIRSE 1:10** en tampón de lavado antes de su uso. SENSIBLE A LA LUZ. No exponga el producto a la luz durante períodos de tiempo prolongado. Consérvelo a 2-8°C en la oscuridad.
- 628221 LMWB Tampón de lavado LIFECODES (30 mL):** Tampón fosfato que contiene NaCl, Tween-20, azida sódica y albúmina de suero bovino. Consérvelo a entre 2 y 8°C y equilibre a temperatura ambiente antes de su uso (20-24°C).
- 265101 LSAPC1 Control positivo LSA de clase I (100 µL):** Esta mezcla del suero o de los sueros se obtiene de los individuos que se ha demostrado que están aloinmunizados a los antígenos de HLA y reaccionarán con la mayoría de las microesferas LSA de clase I. Contiene azida sódica al 0,1% como conservante. Consérvelo a 2-8°C.
- 265102 LSANC1 Control negativo LSA de clase I (100 µL):** Esta mezcla del suero o de los sueros se obtiene de los individuos que se sabe que no tienen ningún anticuerpo contra antígenos HLA y reaccionarán con unas pocas, o ninguna, de las microesferas LSA de clase I. Contiene azida sódica al 0,1% como conservante. Consérvelo a 2-8°C.

265200: LSA2 LIFECODES Clase II LSA™ consiste en cinco (5) componentes en suficiente cantidad para 24 ensayos.

- 265203 LSA2B Mezcla de microesferas LSA de clase II (960 µL):** Mezcla de microesferas, cada una conjugada con una diferente glicoproteína de HLA de clase II más microesferas de control. El tampón de almacenamiento es un tampón de fosfato que contiene NaCl, Tween-20, azida sódica y proteínas bovinas. SENSIBLE A LA LUZ. No exponga, de forma rutinaria, el producto a la luz durante más de tres horas. **Consérvelo por debajo de ≤ 65°C en la oscuridad.**
- 265002 LSACJ Conjugado concentrado LSA (120µL):** Reserva de anticuerpos caprinos anti-IgG humana conjugados con ficoeritrina en un tampón de fosfato de almacenamiento que contiene NaCl, Tween-20 y azida sódica. **DIL DEBE DILUIRSE 1:10** en tampón de lavado antes de su uso. SENSIBLE A LA LUZ. No exponga el producto a la luz durante períodos de tiempo prolongado. Consérvelo a 2-8 °C en la oscuridad.
- 628221 LMWB Tampón de lavado LIFECODES (30 mL):** Tampón fosfato que contiene NaCl, Tween-20, azida sódica y albúmina de suero bovino. Consérvelo a entre 2 y 8°C y equilibre a temperatura ambiente antes de su uso (20-24°C).
- 265201 LSAPC2 Control positivo LSA de clase II (100 µL):** Esta mezcla de suero o de los sueros se obtiene de los individuos que se ha demostrado que están aloinmunizados a los antígenos de HLA y reaccionarán con la mayoría de las microesferas LSA de clase I. Contiene azida sódica al 0,1% como conservante. Consérvelo a 2-8°C.
- 265202 LSANC2 Control negativo LSA de clase II (100 µL):** Esta mezcla del suero o de los sueros se obtiene de los individuos que se sabe que no tienen ningún anticuerpo contra antígenos HLA y reaccionarán con unas pocas, o ninguna, de las microesferas LSA de clase II. Contiene azida sódica al 0,1% como conservante. Consérvelo a 2-8°C.

B. Advertencias y precauciones

1. Para diagnóstico in vitro.
2. En los análisis realizados con métodos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (*United States Food and Drug Administration*) (FDA, por sus siglas en inglés), el material de origen humano utilizado en la producción de este kit ha resultado negativo para el VIH, el HCV y el HbsAg (antígeno de superficie del virus de la hepatitis B). Aun así, ninguna prueba puede garantizar plenamente la ausencia de agentes infecciosos. Por lo tanto, cuando trabaje con estos materiales, **observe las precauciones universales**.
3. La sustitución de los componentes por otros distintos de los incluidos en este sistema puede conducir a resultados erróneos.
4. Los reactivos contienen como conservantes azida sódica al 0,1% que puede reaccionar con las conducciones de plomo y cobre, y formar azidas metálicas explosivas. Cuando elimine los materiales por el desague, utilice grandes cantidades de agua.
5. La contaminación bacteriana de las muestras o la presencia de inmunocomplejos u otros agregados de inmunoglobulinas puede incrementar las uniones inespecíficas y dar resultados erróneos.
6. Este producto detecta anticuerpos IgG que pueden ser o no linfocitotóxicos.
7. No se prevé que el producto detecte anticuerpos de las inmunoglobulinas de las clases IgA o IgM.
8. Las decisiones clínicas que afectan el tratamiento de un paciente no se basan únicamente en la determinación de la presencia o ausencia de anticuerpos frente a HLA. Antes de un trasplante, se realiza sistemáticamente una prueba de histocompatibilidad cruzada.
9. Estos productos se han ideado para utilizarse con el aparato Luminex siguiendo las recomendaciones del fabricante.
10. Elimine todo el material después de su uso de conformidad con las normas locales.
11. Para más información, consulte las ficha(s) de datos de seguridad (MSDS).

C. Instrucciones de conservación

1. Consulte en las etiquetas del producto las indicaciones de conservación.
2. Las microesferas y el conjugado concentrado son SENSIBLES A LA LUZ. No exponga estos productos a la luz durante más de 3 horas.

D. Purificación o tratamiento necesario para su uso

1. Vea "Recogida y preparación de las muestras".
2. El conjugado concentrado debe diluirse 1:10, en un tampón de lavado, antes de su uso.

E. Indicaciones de inestabilidad

1. No utilice componentes ni controles que estén turbios o hayan sobrepasado la fecha de caducidad.
2. Elimine todos los controles positivos y negativos diluidos que no haya utilizado, así como el conjugado después de su uso.

EQUIPOS NECESARIOS

Aparato Luminex y plataforma XY (Lifecodes, número de referencia 888300, 888302)

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

La muestra de sangre debe recogerse sin anticoagulantes y con una técnica aséptica, y analizarse mientras esté fresca, para minimizar las posibilidades de obtener reacciones positivas o negativas falsas debido a un almacenamiento incorrecto o a la contaminación de la muestra. Se debe guardar el suero a una temperatura de entre los 2°C y los 8°C, durante un periodo máximo de 48 horas. **Si el suero va a estar almacenado durante más de 48 horas, debe congelarse a una temperatura igual o inferior a -20 °C, por un periodo máximo de 2 años.** Laboratorios individuales deben establecer y validar los métodos para almacenar suero durante más de dos años. Antes de almacenar o transportar el suero, es preciso separarlo de los eritrocitos. No congele y descongele repetidamente las muestras de suero.

No utilice sueros con contaminación microbiana, hemolizados, lipémicos o inactivados por calor, ya que pueden dar resultados incongruentes.

Antes del ensayo, todas las muestras deben agitarse en Vórtex y centrifugarse (30 segundos a 10.000 xg) para sedimentar la materia particulada existente.

PROCEDIMIENTO

A. Materiales suministrados (Véase REACTIVOS en la página 2 para obtener información más específica)

- Microesferas LSA
- Conjugado concentrado
- Tampón de lavado
- Suero control positivo
- Suero control negativo
- Hoja de registro
- Hoja de formato de placa

B. Materiales, reactivos y equipos necesarios, pero no suministrados (los de la lista o equivalentes)

- Pipetas ajustables de 5 µL – 50 µL con las puntas adecuadas
- Pipeta multicanal de 250 µL con las puntas correspondientes y cubeta para tampón
- Tubos de microcentrifugación de 1,5 mL para diluciones conjugadas
- Tubos de ensayo para las muestras del paciente y los controles
- Cronómetro
- Rotulador
- **Placas de filtro MultiScreen de Millipore (Cat. n° MSBVN1210, MSBVN1250; Lifecodes Cat. n° 888633 o 888315-50)**
- Sistema de vacío Multiscreen (Millipore Cat # MAVM 0960R, Qiagen Cat # 19504, Lifecodes Cat. n° 888315)
- **Fluido del citómetro Luminex (Lifecodes Cat. n° 628005)**
- **Kits de calibración Luminex (Kit de calibración Luminex 100/200, Kit de verificación de rendimiento Luminex 100/200, Lifecodes Cat. n° 628018 y 628019, respectivamente)**
- Agua destilada
- **Plataforma rotatoria**
- **Cubiertas adhesivas de plástico (Corning Cat. n° 6524 o 6570)**

INSTRUCCIONES DE USO

PRECAUCIONES:

- Se DEBE proceder con cuidado para no contaminar el tampón de lavado ni el reactivo del conjugado concentrado (anti-IgG humana). La contaminación accidental de estos reactivos con suero humano neutralizará los anticuerpos anti-IgG humana y, consecuentemente, el análisis resultará erróneo.
- Se debe proceder con cuidado para controlar la intensidad del vacío. Una fuerte presión de vacío puede causar que las microesferas se unan a las membranas y el recuento de las microesferas sea erróneo.
- Se debe proceder con cuidado cuando se vierta mediante la pipeta dentro de la placa del filtro para que las microesferas no se adhieran a los pocillos de las microplacas. Las microesferas deben pipetarse cuidadosamente dentro del pocillo para que la punta de la pipeta no roce la membrana. Si la punta entra en contacto con la membrana, puede perforarla y el análisis resultará erróneo.
- Se deben tomar precauciones para que en las fases de incubación las microesferas no salpiquen y se adhieran a las paredes de los pocillos. Al realizar el análisis por primera vez, analice algunos controles positivos, negativos o de ambos tipos para determinar la velocidad óptima de la plataforma rotatoria o el agitador vórtex. Se ha comprobado que una velocidad de aproximadamente 200 rotaciones por minuto **con un tamaño de órbita de 19mm** es eficaz en algunos aparatos.
- La presencia de niveles significativos de anticuerpo no ligado una vez terminado el lavado, debido a un exceso de suero o a un lavado insuficiente, puede reducir la capacidad del análisis para detectar la IgG unida a las microesferas sensibilizadas y dar lugar a resultados erróneos.
- En cada análisis deben incluirse sueros control positivo y negativo que permiten determinar si se ha producido un error técnico o un fallo de los reactivos
- **El ensayo se valida con 10µL de suero (Protocolo 1) y 20µL de suero (Protocolo 2).**

1. Retire la mezcla de microesferas LSA del congelador y almacénela en la oscuridad, a temperatura ambiente, hasta que se descongele. Luego, colóquela sobre hielo y protéjala de la luz. **NOTA: La mezcla de microesferas puede congelarse y descongelarse hasta por 6 veces sin que afecte su rendimiento, según se indica en el Uso Previsto.**
2. Mientras mantiene los demás componentes a 2-8°C en la oscuridad hasta que los necesite, deje que el tampón de lavado se equilibre con la temperatura ambiente (entre 20 y 24°C) antes de usarlo. Durante este tiempo utilice la hoja de formato de placa para asignar una posición en la placa a cada uno de los sueros y controles que va a analizar. Los sueros control suministrados con el kit se utilizan para mostrar un alosuero positivo con amplia reactividad y un suero negativo.
3. Cubra los pocillos no asignados de la placa de filtro con una cubierta de plástico adhesivo. Humedezca previamente los pocillos que va a utilizar con 100-300 µL de agua destilada. Entre 2 y 5 minutos después, retire el agua aspirando suavemente la placa con el sistema de vacío. (Para utilizarlo correctamente, consulte las recomendaciones del fabricante.)
4. Prepare brevemente (30 segundos) las microesferas LSA centrifugando el vial a 600 – 800 xg para desprender del tapón o de las paredes del vial todas las microesferas o restos de líquido. Agite bien en vórtex (-1 minuto) para resuspender de forma homogénea las microesferas.
5. Añada 40 µL de microesferas LSA a cada uno de los pocillos asignados. **Mientras distribuye las microesferas, agite en vórtex cada 2 minutos el vial de las microesferas LSA para mantenerlas en suspensión, y luego añada 10 µL del suero del paciente y del suero de control (Protocolo 1) o 20 µL del suero del paciente y del suero de control (Protocolo 2) y mezcle.**

PRECAUCIÓN: Es importante mantener las microesferas resuspendidas para asegurar que se distribuyan suficientes microesferas en los pocillos y tiempos reducidos de recuento. Si las microesferas no se agitan intermitentemente en vórtex, se depositarán en el fondo del tubo. Esto causará que se dispense una cantidad diferencial de microesferas en los pocillos, lo cual puede afectar negativamente a los tiempos de ensayo y el análisis de los resultados.

6. Cubra la placa con la cubierta de plástico adhesivo y protéjala de la luz con papel de aluminio o en una caja. **Incube la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-24°C) en la oscuridad y sobre una plataforma rotatoria.** Vuelva a almacenar, en la oscuridad y a 2-8°C, los sueros control y las microesferas que no haya utilizado, para usos futuros. Vuelva a almacenar, en la oscuridad y a ≤- 65°C, las porciones que no haya utilizado de la mezcla de microesferas LSA, para usos futuros.
7. Diluya el conjugado con tampón de lavado (5 µL de conjugado en 45 µL de tampón de lavado por muestra). Para compensar las pérdidas por pipeteo, es aconsejable preparar un (1) volumen extra de conjugado diluido. Cúbalo con papel de aluminio o consérvelo en la oscuridad, a temperatura ambiente, hasta que lo utilice. Vuelva a almacenar, en la oscuridad y a 2-8°C, el conjugado concentrado que no haya utilizado, para usos futuros.
8. Tras los 30 minutos de incubación, retire la cubierta de plástico adhesivo y añada 100 µL de tampón de lavado a cada pocillo. Mezclar para volver a suspender las perlas y succionar ligeramente la placa.

PRECAUCIÓN: Si la intensidad de vacío es excesiva, las microesferas se adherirán a la membrana y puede causar que el análisis de la muestra fracase. Aplique la presión de vacío mínima necesaria para aspirar las muestras.

9. Añadir 250 µL de Buffer de lavado a cada pozo, mezclar para volver a suspender las perlas, succionar y repetir dos veces más el procedimiento para realizar un total de tres lavados.

PRECAUCIÓN: Un lavado incompleto puede reducir la capacidad del conjugado de detectar IgG unida a microesferas sensibilizadas y conducir falsos negativos.

10. Añada 50 µL de conjugado diluido a cada uno de los pocillos. Proteja la placa de la luz con papel de aluminio o en una caja. Colóquela en una plataforma rotatoria (a 200 rotaciones por minuto) o agítela suavemente en vórtex cada 5-10 minutos. Incúbela durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-24°C).
11. Con una punta de pipeta limpia, añada de 130 a 150 µL de tampón de lavado en cada pocillo y mezcle para resuspender las microesferas.
12. Recolecte los datos con el aparato Luminex siguiendo las recomendaciones del fabricante. Un retraso de más de 3 horas puede aumentar las probabilidades de obtener reacciones falsamente positivas o falsamente negativas. Vuelva a almacenar a 2-8°C el tampón de lavado que no haya utilizado, para usos futuros.

RESULTADOS

Introduzca los valores de Intensidad Mediana de Fluorescencia (MFI, por sus siglas en inglés) cruda para cada microesfera en la hoja de registro específica del lote. Para determinar si una microesfera es positiva, primero determine si el valor de MFI de cada microesfera con antígeno unido es superior al umbral indicado en la hoja de registro específica del lote que se suministra con el kit. Si el valor de MFI de una determinada microesfera con antígeno unido es superior al umbral, divida su MFI por el del antígeno de más baja clasificación (LRA, por sus siglas en inglés) del locus correspondiente, para obtener el cociente MFI/Antígeno de más baja clasificación (MFI/LRA). El LRA de cada locus es el valor de MFI de la microesfera con antígeno de más baja clasificación para ese locus.

Ejemplo : $\frac{\text{MFI de una microesfera individual}}{\text{MFI del LRA para el locus "1"}} = \text{MFI/LRA para el antígeno "x" del locus "1"}$

$\frac{\text{MFI de una microesfera individual}}{\text{MFI del LRA para el locus "2"}} = \text{MFI/LRA para el antígeno "y" del locus "2"}$

$\frac{\text{MFI de una microesfera individual}}{\text{MFI del LRA para el locus "3"}} = \text{MFI/LRA para el antígeno "z" del locus "3"}$

Consulte en la hoja de registro específica del lote que se suministra con el kit, la lista de antígenos presentes en cada microesfera, y el valor de corte para determinar el resultado positivo/negativo para cada microesfera con antígeno unido. Se considera que una microesfera con antígeno unido es positiva cuando el valor de MFI es superior al umbral de MFI y el cociente MFI/LRA es superior al valor de corte.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad de LSA de clase I y clase II se desarrolla dentro del sistema de pruebas, incluyendo un suero control positivo y negativo. Estos sueros control deben incluirse con cada prueba que se realice para ayudar a determinar si han ocurrido errores técnicos o fallos de reactivos. Los sueros del control positivo reaccionarán con un número elevado de microesferas conjugadas con HLA dando lugar a un patrón similar al indicado en la hoja de registro específica del lote. Los sueros de control negativo reaccionarán con pocas o ninguna de las microesferas conjugadas con HLA dando lugar a valores de MFI cruda ≤ 1000 .

Los juegos de microesferas incluyen microesferas de control para verificar los resultados de cada muestra. La microesfera de control positivo está recubierta con IgG humana y debería indicar una MFI ≥ 10.000 con los sueros control. Si se obtienen valores de MFI inferiores a 10.000 con los sueros control, es probable que el lavado del ensayo haya sido insuficiente o que el conjugado no esté en buenas condiciones. Las muestras de pacientes muestran un amplio rango de reactividad con la microesfera de control positivo, pero siempre deberían generar una señal de MFI ≥ 10.000 . La microesfera de control negativo debería generar valores bajos de MFI con los sueros de control. Consulte en la hoja de registro específica del lote los límites observados para las microesferas de control con los sueros de control.

El ensayo se debe llevar a cabo según las recomendaciones del envase, así como según otros procedimientos de control de calidad que cumplen las especificaciones locales, estatales, federales y/o de las agencias certificadoras.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Pueden obtenerse resultados erróneos por contaminación bacteriana de los materiales, incubaciones demasiado cortas, lavado o decantado insuficiente de las microesferas, exposición del conjugado a luz parásita u omisión de reactivos o etapas de la prueba.

La presencia de inmunocomplejos u otros agregados de inmunoglobina en la muestra del paciente puede incrementar las uniones inespecíficas y producir resultados erróneos en este ensayo.

Los anticuerpos detectados por los kits LSA son aquellos reactivos dentro de la población de antígenos disponibles detallados en la hoja de registro.

Las glicoproteínas de un solo antígeno HLA, de clase I y II, de LIFECODES se obtuvieron de líneas de células que indicaban antígenos individuales HLA.

Algunos IgG con baja avidéz o título bajo, IgA, IgM y anticuerpos monoespecíficos contra antígenos no incluidos en el panel, no se detectarán con ensayos de un solo antígeno de LIFECODES.

Los títulos de anticuerpos del suero están específicamente relacionados al paciente y a momentos determinados. Si muchas microesferas están produciendo valores de MFI mayores de 15.000, puede ser necesario diluir los sueros para detectar mejor los anticuerpos IgG.

Debido a la complejidad del análisis de HLA, la interpretación de los datos debería ser revisada por personal cualificado. En la determinación de la especificidad de los anticuerpos con los kits LSA deben tenerse en cuenta los resultados de todas las microesferas, incluyendo aquellas iguales o similares al valor de corte. Puede ser útil el conocimiento del paciente y la comprensión de los grupos con reactividad cruzada para asignar la especificidad a un suero determinado.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

PROBLEMA	POSIBLE CAUSA	SOLUCIÓN
Escaso número de microesferas	La mezcla de microesferas no está correctamente suspendida	Agítela en vórtex por pulsos para resuspenderla por completo
	Fallo del aparato – Mal equilibrado	Consulte el manual del aparato
	Fallo del aparato – Bloqueo del flujo de muestra	Consulte el manual del aparato
	Microesferas fotoblanqueadas	Utilice un nuevo kit
	Presión de vacío demasiado elevada/microesferas adheridas a la membrana	Reduzca la intensidad del vacío; para las placas de filtro MultiScreen de Millipore se recomienda un vacío de 271- 406 mb (203-305 mm Hg)
Se sobrepasa el umbral para la microesfera de control negativo (NC) con los sueros de control	Lavado deficiente	Repita y controle los lavados
	Adición de muestra incorrecta	Repita con la muestra control correcta
No se alcanza el umbral para la microesfera de control positivo (PC) con los sueros de control	Conjugado en mal estado (p.ej., fotoblanqueo)	Utilice un nuevo kit
	Lavado deficiente	Repita y controle los lavados
	Adición de muestra incorrecta	Repita con la muestra control correcta
No se alcanza el umbral para la microesfera de control positivo (PC) con la muestra del paciente	Conjugado en mal estado (p.ej., fotoblanqueo)	Utilice un nuevo kit
	Lavado deficiente	Repita y controle los lavados
Modelo anómalo para el suero control positivo	Muestra agregada incorrecta	Repita con la muestra control correcta
	Lavado deficiente	Repita los lavados y supervíselos
	Adición de muestra incorrecta	Repita con la muestra control correcta
Asignación positiva para los sueros de control negativo (> 2 microesferas conjugadas con HLA) o MFI >10.000	Lavado deficiente	Repita y controle los lavados para asegurar que las microesferas se resuspenden correctamente
		Reduzca la intensidad del vacío
	Contaminación de la mezcla de microesferas, el tampón de lavado, los sueros de control negativo o el conjugado concentrado con muestra positiva	Utilice un nuevo kit
Placa de filtro obstruida	Materia particulada en la muestra	Centrifugue la muestra durante aproximadamente 5 minutos a 8.000 – 12.000 xg

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE RENDIMIENTO

Cuando se utiliza el kit LIFECODES LSA siguiendo el procedimiento descrito, el resultado revela la presencia o la ausencia de anticuerpos IgG HLA. Para el ensayo clínico se usaron los valores de corte estándar de LABScreen, de modo que se consideraron positivas las puntuaciones > 4.

LSA Clase I

El kit LIFECODES LSA Clase I mostró una copositividad del 93,7 % (93,4 %) para 151 muestras con antígenos coincidentes cuando se compararon con los resultados obtenidos por el método LABScreen Single Antigen HLA Class I- Combi, Cat. n° LS1A04 (límite inferior del intervalo de confianza del 95 % unilateral).

LSA Clase II

El kit LIFECODES LSA Clase II mostró una copositividad del 90,5 % (89,9 %) para 150 muestras con antígenos coincidentes cuando se compararon con los resultados obtenidos por el método LABScreen Single Antigen HLA Class II- Group 1, Cat. n° LS2A01 (límite inferior del intervalo de confianza del 95 % unilateral).

REFERENCIAS

- 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.

FABRICANTE Y REPRESENTANTE AUTORIZADO

Fabricante: Para Immucor Transplant Diagnostics, Inc., 550 West Avenue, Stamford, CT 06902 USA. EE.UU.

Teléfono: 855.IMMUCOR o 777 225 8790 (Internacional), Fax: +1 203 328 9599

Representante autorizado: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Alemania

Teléfono: +49 (0) 6103 80560, Fax: +49 (0) 6103 8056199

Servicio técnico para Europa: +32/3 385 47 91

Publicación: Rev 1, 24-01-2017

