

Documentation de produit et traductions disponibles sur le site : www.immucor.com

FICHE DE PRODUIT

ID de classe I LIFECODES LSA™ : un test de dépistage Luminex® pour la détection qualitative des anticorps IgG dirigés contre les molécules HLA de classe I.

ID de classe II LIFECODES LSA™ : un test de dépistage Luminex® pour la détection qualitative des anticorps IgG dirigés contre les molécules HLA de classe II.

Destiné au diagnostic in vitro.

TABLE DES MATIÈRES

<p>Définition des symboles 1</p> <p>Usage prévu 2</p> <p>Résumé et explication 2</p> <p>Principes de la procédure 2</p> <p>Réactifs 2</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Identification 2</p> <p style="padding-left: 20px;">B. Avertissements et mises en garde..... 3</p> <p style="padding-left: 20px;">C. Instructions de stockage..... 3</p> <p style="padding-left: 20px;">D. Purification ou traitement avant emploi..... 3</p> <p style="padding-left: 20px;">E. Indications d'instabilité..... 3</p> <p>Exigences de l'appareil 3</p>	<p>Prélèvement et préparation des échantillons 3</p> <p>Procédure 3</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Matériel fourni 3</p> <p style="padding-left: 20px;">B. Matériel requis, mais non fourni..... 3</p> <p>Mode d'emploi 4</p> <p>Résultats 5</p> <p>Contrôle de qualité..... 5</p> <p>Limitations de la procédure 5</p> <p>Diagnostic de pannes 6</p> <p>Caractéristiques de performances spécifiques 6</p> <p>Références..... 6</p>
---	--

DÉFINITION DES SYMBOLES

(Étiquettes de produit et documents supplémentaires)

Code du lot		Numéro de référence		Utiliser jusqu'au		Plage de température (stockage)	
Échantillon		Fabricant		Seuil IFM		Température (stockage)	
Diluer avant toute utilisation		Photosensible (À conserver à l'abri de la lumière)		Quantité suffisante pour N tests		Consulter les instructions d'utilisation	
Nom du patient		Numéro d'identification		Date		Technicien	
Bille		Classe I		Classe II		Seuil	
Fond		Antigène		Intensité médiane de fluorescence		Interprétation	
Bille témoin négatif		Bille témoin positif (Immunoglobuline G)		Date de prélèvement sanguin		ID de l'antigène	
Antigène le plus bas		IFM / Antigène le plus bas		Avertissement		Limites observées	
Densité relative de l'antigène		Équivalent sérologique					

USAGE PRÉVU

LIFECODES LSA™ de classe I et de classe II sont des immuno-essais exploitant la technique des billes, utilisés pour la détection qualitative des anticorps IgG du système HLA

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les antigènes des leucocytes humains (HLA) sont en fait des glycoprotéines qui interviennent dans la présentation des peptides au système immunitaire.^{1,2} Toutefois, en raison de leur haut degré de polymorphisme, les molécules HLA peuvent également servir de cibles aux anticorps chez certaines personnes pendant la grossesse, la transfusion de produits sanguins, ou le rejet de greffe d'organe. En général, l'allo-immunisation entraîne la production d'anticorps HLA dans 33 % environ des individus exposés.³ La présence ou l'absence de ces anticorps spécifiques au système HLA intervient dans la détermination de la survie des allogreffes.⁴

Les billes LIFECODES LSA™ de classe I sont conçues pour la détection des anticorps IgG dirigés contre les glycoprotéines HLA de classe I. Le kit LSA de classe I se compose de différentes billes Luminex auxquelles des glycoprotéines HLA de classe I recombinées et purifiées sont conjuguées.

Les billes LIFECODES LSA™ de classe II sont conçues pour la détection des anticorps IgG dirigés contre les glycoprotéines HLA de classe II. Le kit LSA de classe II se compose de différentes billes Luminex auxquelles des glycoprotéines HLA de classe I recombinées et purifiées sont conjuguées.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Un aliquot de billes est incubé dans un petit volume d'échantillon de sérum à tester. Les billes sensibilisées sont alors rincées pour éliminer tous les anticorps non liés. Un anticorps IgG anti-humain conjugué à la phycoérythrine est alors ajouté. Après une autre incubation, l'échantillon à tester est dilué et analysé par l'appareil Luminex. L'intensité du signal émis par chaque bille est comparée à celle de la bille spécifique au locus la plus basse se trouvant dans la préparation des billes pour déterminer si la bille va réagir de manière positive ou négative à un allo-anticorps lié.

RÉACTIFS

A. Identification

265100: **LSA1** Le kit ID LIFECODES LSA™ de classe I comprend cinq (5) composants en quantité suffisante pour la réalisation de 24 tests.

1. **265103** **LSA1B** **Billes LSA de classe I** (960 µL) : Un mélange de billes conjuguées à une glycoprotéine HLA de classe I différente plus des billes de contrôle. Le tampon de stockage est un tampon phosphate contenant du NaCl, du Tween-20, de l'azide de sodium et des protéines bovines. PHOTOSENSIBLE. Ne pas l'exposer plus de trois heures à la lumière. **Conserver à ≤ -65 °C à l'abri de la lumière**
2. **265002** **LSACJ** **Concentré du conjugué LSA** (120 µL) : IgG de chèvre anti-humaine conjuguée à la phycoérythrine dans un tampon phosphate de stockage contenant du NaCl, du Tween-20, et de l'azide de sodium. **DIL** DOIT ÊTRE DILUÉ AU 1:10 dans un tampon de lavage avant toute utilisation. PHOTOSENSIBLE. Conserver à l'abri de la lumière directe pour des périodes prolongées. **Conserver entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière.**
3. **628221** **LMWB** **Tampon de lavage LIFECODES** (30 mL) : Tampon phosphate contenant du NaCl, du Tween-20, de l'azide de sodium et de l'albumine de sérum bovin. **Conserver entre 2 et 8 °C et équilibrer à température ambiante (20-24 °C) avant toute utilisation.**
4. **265101** **LSAPC1** **Sérum de contrôle positif LSA de classe I** (100 µL) : Ce mélange de sérum ou de sérums est obtenu à partir d'individus connus pour être allo-immunisés aux antigènes de HLA et réagira à la plupart des Billes LSA de classe I. Contient 0,1% d'azide de sodium utilisé comme agent de conservation. **Conserver entre 2 et 8 °C**
5. **265102** **LSANC1** **Sérum de contrôle négatif LSA de classe I** (100 µL) : Ce mélange de sérum ou de sérums est obtenu à partir d'individus connus pour n'avoir aucun anticorps aux antigènes de HLA et réagira à peu ou à aucune des billes LSA de classe I. Contient 0,1 % d'azide de sodium utilisé comme agent de conservation. **Conserver entre 2 et 8 °C.**

265200: **LSA2** Le kit ID LIFECODES LSA™ de classe II comprend cinq (5) composants en quantité suffisante pour la réalisation de 24 tests.

1. **265203** **LSA2B** **Billes LSA de classe II** (960 µL) : Un mélange de billes conjuguées à une glycoprotéine HLA de classe II différente plus des billes de contrôle. Le tampon de stockage est un tampon phosphate contenant du NaCl, du Tween-20, de l'azide de sodium et des protéines bovines. PHOTOSENSIBLE. Ne pas l'exposer plus de trois heures à la lumière. **Conserver à ≤ -65 °C à l'abri de la lumière.**
2. **265010** **LSACJ** **Concentré du conjugué LSA** (120 µL) : IgG de chèvre anti-humaine conjuguée à la phycoérythrine dans un tampon phosphate de stockage contenant du NaCl, du Tween-20, et de l'azide de sodium. **DIL** DOIT ÊTRE DILUÉ AU 1:10 dans un tampon de lavage avant toute utilisation. PHOTOSENSIBLE. Conserver à l'abri de la lumière directe pendant des périodes prolongées. **Conserver entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière.**
3. **628221** **LMWB** **Tampon de lavage LIFECODES** (30 mL) : Tampon phosphate contenant du NaCl, du Tween-20, de l'azide de sodium et de l'albumine de sérum bovin. **Conserver entre 2 et 8 °C et équilibrer à température ambiante (20-24 °C) avant toute utilisation.**
4. **265201** **LSAPC2** **Sérum de contrôle positif LSA de classe II** (100 µL) : Ce mélange de sérum ou de sérums est obtenu à partir d'individus connus pour être allo-immunisés aux antigènes de HLA et réagira à la plupart des billes LSA de classe II. Contient 0,1 % d'azide de sodium utilisé comme agent de conservation. **Conserver entre 2 et 8 °C.**
5. **265202** **LSANC2** **Sérum de contrôle négatif LSA de classe II** (100 µL) : Ce mélange de sérum ou de sérums est obtenu à partir d'individus connus pour n'avoir aucun anticorps aux antigènes de HLA et réagira à peu ou à aucune des Billes LSA de classe II. Contient 0,1 % d'azide de sodium utilisé comme agent de conservation. **Conserver entre 2 et 8 °C.**

B. Avertissements et mises en garde

1. Destiné au diagnostic in vitro.
2. Les produits d'origine humaine utilisés pour la production de ce kit ont été testés par des méthodes approuvées par la FDA (Agence fédérale américaine des aliments et des médicaments) et se sont révélés négatifs vis-à-vis des anticorps aux virus VHC et VIH et de l'antigène HbsAg. Toutefois, il n'existe aucune méthode de test garantissant l'absence totale d'agents infectieux. Par conséquent, **respecter les précautions universelles** lors de la manipulation de ces produits.
3. La substitution de composants autres que ceux fournis dans ce système risque de fausser les résultats.
4. Les réactifs contenant 0,1 % d'azide de sodium utilisés comme agent de conservation peuvent réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des azides métalliques explosifs. Rincer à grande eau lors de l'évacuation des produits dans un évier.
5. La contamination bactérienne des échantillons, la présence de complexes immuns ou d'autres agrégats d'immunoglobulines risque de favoriser la liaison non spécifique et de fausser les résultats.
6. Ce produit détecte les anticorps IgG pouvant être ou non lymphocytotoxiques.
7. Ce produit n'est pas conçu pour la détection des anticorps des immunoglobulines de classe IgA ou IgM.
8. La décision clinique touchant le traitement d'un patient ne repose pas uniquement sur la seule détermination de la présence ou de l'absence d'anticorps au HLA. Un contrôle de compatibilité croisée final est couramment effectué avant de procéder à la greffe.
9. Ces produits sont conçus pour une utilisation combinée avec l'appareil Luminex conformément aux recommandations du fabricant.
10. Jeter tous les produits après usage conformément aux réglementations locales.
11. Voir les fiches signalétiques pour plus d'informations.

C. Instructions de stockage

1. Consulter les étiquettes de produit pour de plus amples renseignements sur le stockage.
2. Les billes et le conjugué sont PHOTOSENSIBLES. Ne pas les exposer plus de trois heures à la lumière.

D. Purification ou traitement requis avant emploi

1. Voir la section « Prélèvement et préparation ».
2. Le concentré du conjugué doit être dilué au 1:10 dans un tampon de lavage avant toute utilisation.

E. Indications d'instabilité

1. Ne pas utiliser les composants ou témoins troubles ou au-delà de leur date d'expiration.
2. Jeter le surplus de toutes les solutions diluées de contrôles positifs et négatifs et de conjugué après usage.

EXIGENCES DE L'APPAREIL

Appareil Luminex et plate-forme XY (numéro de produit Lifecodes 888300, 888302)

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Utiliser une technique aseptique pour collecter le sang sans anticoagulant et le tester pendant qu'il est encore frais pour réduire au maximum les risques d'obtention de fausse réaction positive ou négative résultant d'un stockage incorrect ou d'une contamination de l'échantillon. Le sérum doit être conservé entre 2 et 8 °C pendant 48 heures maximum. Si le sérum doit être conservé plus de 48 heures, il doit être congelé à une température d'au moins -20 °C pendant 2 ans maximum. Les laboratoires individuels doivent établir et valider des méthodes pour stocker les sérums pendant plus de 2 ans. Le sérum doit toujours être séparé des globules rouges avant tout envoi ou stockage. Éviter toute congélation/décongélation successive des échantillons de sérum.

Éviter d'utiliser des sérums microbiologiquement contaminés, hémolytiques, ou lipémiques pour éviter des résultats incohérents.

Tous les échantillons doivent être préalablement passés au vortex et centrifugés brièvement (30 secondes à 10 000 xg) pour agglomérer toute matière particulière présente.

PROCÉDURE

A. Matériel fourni (voir RÉACTIFS à la page 2 pour des informations spécifiques)

- Billes LSA
- Concentré du conjugué
- Tampon de lavage
- Sérum de contrôle positif
- Sérum de contrôle négatif
- Fiche de notes
- Fiche format de plaque

B. Matériel, réactifs et équipement requis mais non fournis (indiqués ci-dessous ou équivalent)

- Pipettes réglables de 5 µL – 50 µL avec embouts appropriés
- Pipette multicanaux de 250 µL avec embouts appropriés et tampon circulant
- Tubes de 1,5 mL pour microcentrifugeuse pour les dilutions du conjugué
- Tubes de test pour le patient et les échantillons témoins
- Minuterie
- Marqueur
- Plaques de filtration Multiscreen Millipore (n° réf. Millipore MSBVN1210, MSBVN1250 ; n° réf. Lifecodes 888633 ou 888633-50)
- Collecteur aspirant multiscreen (n° réf. Millipore MAVM 0960R, n° réf. Qiagen 19504, n° réf. Lifecodes 888315)
- Liquide de gaine Luminex (n° réf. Lifecodes 628005)
- Kits de calibration Luminex (kit de calibration Luminex 100/200, kit de vérification des performances Luminex 100/200, n° réf. Lifecodes 628018 et 628019 respectivement)
- Eau distillée
- Plate-forme rotative
- Couvre-capsules adhésifs en plastique (n° réf. Corning 6524 ou 6570)

MODE D'EMPLOI

PRÉCAUTIONS :

- FAIRE TRÈS ATTENTION à ne pas contaminer le tampon de lavage et le réactif de l'IgG anti-humaine. Toute contamination accidentelle de ces réactifs avec le sérum humain entraînera la neutralisation de l'IgG anti-humaine et donc, faussera le test.
 - Faire très attention à l'aspiration. Une forte aspiration risque de coller les billes à la membrane biaisant ainsi le nombre de billes comptées.
 - Faire très attention lors du pipetage dans la plaque filtrante que les billes ne restent pas collées sur les côtés des puits de la microplaque. Les billes doivent être pipetées dans la solution se trouvant dans le puits, tout en faisant très attention à ne pas toucher la membrane avec l'embout de la pipette. Tout contact de l'embout de la pipette avec la membrane risque d'entraîner une ponction de la membrane et donc, de fausser le test.
 - Au cours des étapes d'incubation, veiller à ce que les billes ne se dispersent pas et ne s'accrochent pas sur les côtés des puits. Lors de la première réalisation du test, il est recommandé d'utiliser quelques contrôles positifs et/ou négatifs pour déterminer la vitesse optimale de la plate-forme rotative ou de l'agitateur vortex. Une vitesse d'environ 200 rotations par minute avec une taille d'orbite de 19 mm est considérée comme efficace pour certains appareils.
 - La présence de niveaux significatifs d'anticorps non liés suite aux étapes de nettoyage, résultant d'un excès de sérum ou d'un nettoyage insuffisant risque de réduire les performances du test pour détecter l'IgG liée aux billes sensibilisées et de fausser les résultats.
 - Toutefois, les sérums de contrôles positif et négatif doivent être inclus dans chaque test pour faciliter la détection des erreurs techniques ou des défaillances de réactifs.
 - Le test est validé avec 10 µL de sérum (Protocole 1) et 20 µL de sérum (Protocole 2).
- Sortir le mélange de billes LSA du congélateur et le conserver à l'abri de la lumière à température ambiante jusqu'à ce qu'il soit décongelé. Puis le placer sur de la glace et le mettre à l'abri de la lumière. **REMARQUE : le mélange de billes peut être congelé et décongelé un maximum de 6 fois sans que leur performance ne soit affectée, comme indiqué dans l'usage prévu.**
 - Laisser les autres composants entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation et patienter jusqu'à ce que le tampon de lavage soit à température ambiante (20 à 24 °C) avant toute utilisation. Pendant ce temps, utiliser la fiche au format plaque pour attribuer une position à chaque sérum et aux témoins sur la plaque pour analyse ultérieure. Les sérums de contrôle fournis dans ce kit sont utilisés pour illustrer un allosérum à large réactivité positive et un sérum négatif.
 - Recouvrir les puits non utilisés de la plaque à filtre d'un film adhésif en plastique. Humidifier ensuite les puits à utiliser avec 100 à 300 µL d'eau distillée. Après 2 à 5 minutes, éliminer l'eau par aspiration douce en utilisant le collecteur aspirant. (Voir les recommandations du fabricant pour une utilisation correcte.)
 - Préparer les billes LSA brièvement (30 secondes) en centrifugeant le flacon entre 600 et 800 x g pour éliminer toutes les billes ou tout liquide du capuchon ou des parois du flacon. Bien agiter au vortex (environ 1 minute) pour une suspension uniforme des billes.
 - Ajouter 40 µL de billes LSA dans chaque puits à tester. Agiter de nouveau au vortex le flacon de billes LSA toutes les 2 minutes afin de maintenir les billes en suspension tout en les répartissant, puis ajouter 10 µL de sérum du patient et de sérum témoin (Protocole 1) ou 20 µL de sérum du patient et de sérum témoin (Protocole 2) et mélanger.

ATTENTION : Il est essentiel de remettre les billes en suspension pour garantir qu'un nombre suffisant de billes est distribué dans chaque puits et un temps de comptage réduit. Le fait de ne pas agiter les billes par intermittence au moyen du vortex risque d'entraîner leur accumulation au fond du tube. Cela entraînerait un nombre différentiel de billes distribuées dans les puits et donc, de fausser les temps d'exécution et l'analyse des résultats.

- Recouvrir la plaque d'un film adhésif en plastique puis avec du papier aluminium ou la placer dans une boîte à l'abri de la lumière. Incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 24 °C) à l'abri de la lumière sur une plate-forme rotative. Stocker à nouveau les solutions de sérums témoins non utilisés entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière pour une utilisation ultérieure. Stocker à nouveau le mélange de billes LSA non utilisées à ≤ -65 °C à l'abri de la lumière pour une utilisation ultérieure.
- Diluer le conjugué avec du tampon de lavage (5 µL de conjugué pour 45 µL de tampon de lavage par échantillon). Pour compenser les pertes de volume lors du pipetage, il est souhaitable de préparer une solution du conjugué dilué contenant un (1) volume supplémentaire. Recouvrir avec du papier aluminium et/ou conserver à l'abri de la lumière à température ambiante jusqu'à utilisation. Stocker à nouveau la solution de concentré du conjugué non utilisée entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière pour une utilisation ultérieure.
- Après une incubation de 30 minutes, retirer le film adhésif en plastique et ajouter 100 µL de tampon de lavage dans chaque puits. Mélanger pour remettre les billes en suspension et aspirer doucement la plaque.

ATTENTION : Une aspiration trop forte risque de coller les billes à la membrane et de fausser l'échantillon. Appliquer la pression la plus faible requise pour aspirer les échantillons.

- Ajouter 250 µL de tampon de lavage dans chaque puits, mélanger pour remettre les billes en suspension, aspirer et répéter deux autres fois afin d'obtenir un total de trois lavages.

ATTENTION : Un nettoyage incomplet risque de réduire les capacités du conjugué à détecter l'IgG liée aux billes sensibilisées et d'entraîner des résultats faux négatifs.

- Ajouter 50 µL de conjugué dilué dans chaque puits. Recouvrir la plaque avec du papier aluminium ou la placer dans une boîte à l'abri de la lumière. Placer sur une plate-forme rotative (définie à 200 rotations par minute) ou agiter doucement au vortex toutes les 5 ou 10 minutes. Incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 24 °C).
- En utilisant un embout de pipette propre, ajouter 130 - 150 µL de tampon de lavage dans chaque puits et mélanger pour remettre les billes en suspension.
- Acquisition des données à l'aide de l'appareil Luminex conformément aux recommandations du fabricant. Des acquisitions différées de plus de trois heures augmentent les risques d'obtention de fausses réactions positives ou négatives. Stocker à nouveau la solution de tampon de lavage non utilisée entre 2 et 8 °C pour une utilisation ultérieure.

RÉSULTATS

Saisir dans la fiche de notes spécifique au lot les valeurs brutes de l'intensité de fluorescence médiane (IFM) pour chaque bille.

Pour savoir si une bille est positive, déterminer d'abord si l'IFM de chaque antigène est supérieure au seuil IFM figurant dans la fiche de notes spécifique au lot fournie avec le kit. Si une bille est supérieure à ce seuil, divisez l'IFM par l'IFM de l'antigène le plus bas (LRA) de son locus respectif pour générer le ratio IFM/Antigène le plus bas (IFM/LRA). Le LRA de chaque locus est la valeur IFM de la bille de l'antigène le plus bas pour ce locus.

Exemple: $\frac{\text{Bille individuelle IFM}}{\text{LRA IFM du locus « 1 »}} = \text{IFM/LRA pour l'antigène « x » du locus « 1 »}$

$\frac{\text{Bille individuelle IFM}}{\text{LRA IFM du locus « 2 »}} = \text{IFM/LRA pour l'antigène « y » du locus « 2 »}$

$\frac{\text{Bille individuelle IFM}}{\text{LRA IFM du locus « 3 »}} = \text{IFM/LRA pour l'antigène « z » du locus « 3 »}$

Consulter la fiche de notes spécifique au lot fournie avec le kit pour avoir la liste des antigènes présents sur chaque bille et la valeur seuil pour déterminer le résultat positif/négatif avec chaque bille liée à des antigènes. La bille est considérée positive si la valeur IFM est supérieure au seuil IFM et que le ratio IFM/LRA est supérieur à la valeur seuil.

CONTRÔLE QUALITÉ

Le contrôle qualité des kits ID LSA de classe I et de classe II fait partie du système de test par l'inclusion de sérums de contrôles positifs et négatifs. Ces contrôles doivent être inclus avec chaque test effectué pour faciliter la détection des erreurs techniques ou des défaillances de réactifs. Les sérums témoins positifs réagiront avec un nombre important des billes conjuguées au système HLA, créant un motif similaire à celui qui se trouve sur la fiche de notes spécifique au lot. Les sérums témoins négatifs réagiront avec peu de billes, sinon aucune, conjuguées au système HLA, générant des valeurs IFM ≤ 1000 IFM.

Les ensembles de billes comportent chacun des billes de contrôle utilisées pour contrôler les performances de chaque échantillon. La bille de contrôle positive est enrobée d'IgG humaine et le sérum de contrôle doit indiquer des valeurs IFM $\geq 10\,000$. L'obtention de valeurs inférieures à 10 000 IFM signifie que l'étape de nettoyage du test est incomplète ou que le conjugué est contaminé. ▲ Les échantillons des patients peuvent montrer un large intervalle de réactivité avec la bille témoin positif (voir les caractéristiques de performances spécifiques des intervalles observés pour la bille témoin positif pendant les essais cliniques). La bille témoin négatif doit indiquer de faibles valeurs IFM avec les sérums témoins. Consulter la fiche de notes spécifique au lot pour connaître les limites observées pour les billes témoins avec les sérums témoins.

Le test doit être réalisé de la manière recommandée dans la notice d'accompagnement du produit et en suivant toutes les procédures de contrôle qualité conformes aux exigences locales, régionales et nationales et/ou des organismes d'agrément.

LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

Des résultats erronés peuvent résulter d'une contamination bactérienne des produits de test, de périodes d'incubation inadéquates, d'un nettoyage ou décantation incorrects des billes, d'une exposition du conjugué à la lumière ou de l'oubli de réactifs de test ou d'étapes.

La présence de complexes immuns ou d'autres agrégats d'immunoglobulines dans l'échantillon du patient risque de favoriser la liaison non spécifique et de fausser les résultats du test.

Pour les kits ID LSA, les anticorps détectés sont ceux réagissant avec la population d'antigènes disponibles figurant sur la fiche de notes.

Les glycoprotéines HLA de classe I et II à antigène unique LIFECODES ont été obtenues à partir de lignées cellulaires exprimant des antigènes HLA uniques.

Certains anticorps monospécifiques de faible avidité ou de titre faible, IgA, IgM à des antigènes non inclus dans le panel ne seront pas détectés par les tests à antigène unique LIFECODES.

Les titres d'anticorps sérique sont spécifiques au patient et au point dans le temps. Si un nombre important de billes produisent des valeurs IFM supérieures à 15 000, il peut s'avérer nécessaire de diluer les sérums pour mieux détecter les anticorps IgG.

En raison de la complexité du typage HLA, il est recommandé qu'un personnel qualifié vérifie l'interprétation des données. La détermination de la spécificité d'anticorps à l'aide des kits LSA doit tenir compte des résultats de toutes les billes, y compris ceux qui approchent ou égalent la valeur seuil. La connaissance du dossier du patient ainsi que la compréhension des groupes de réaction croisée peuvent faciliter la détermination de spécificité pour un sérum particulier.

DIAGNOSTIC DE PANNES

PROBLÈME	CAUSE POSSIBLE	SOLUTION
Nombre de billes insuffisant	Suspension incomplète de la solution de billes	Agiter au vortex pour une suspension complète
	Défaillances de l'appareil - Calibration incorrecte	Voir le manuel de l'appareil
	Défaillances de l'appareil - Voie de passage des échantillons bloquée	Voir le manuel de l'appareil
	Photo-blanchissement des billes	Utiliser un nouveau kit
	Aspiration trop forte/billes collées à la membrane	Réduire l'aspiration ; pour les plaques de filtration Multiscreen Millipore, une aspiration de 271 à 406 millibars (8-12 pouces Hg) est recommandée
Dépassement du seuil de la bille témoin négatif (NC) avec le sérum témoin	Nettoyage insuffisant	Recommencer et surveiller les procédures de nettoyage
	Échantillon incorrect ajouté	Recommencer avec le bon échantillon témoin
Défaillance du seuil de la bille témoin positif (PC) avec le sérum témoin	Conjugué corrompu (ex. : photoblanchiment)	Utiliser un nouveau kit
	Nettoyage insuffisant	Recommencer et surveiller les procédures de nettoyage
	Échantillon incorrect ajouté	Recommencer avec le bon échantillon témoin
Anomalie dans le motif du sérum témoin positif	Échantillon incorrect ajouté	Recommencer avec le bon échantillon témoin
	Nettoyage insuffisant	Recommencer et surveiller les procédures de nettoyage
Détermination positive pour le sérum témoin négatif (>2 billes conjuguées à HLA) ou >1000 IFM.	Échantillon incorrect ajouté	Recommencer avec le bon échantillon témoin
	Nettoyage insuffisant	Recommencer et surveiller les procédures de nettoyage pour s'assurer que les billes sont de nouveau suspendues pendant le lavage Réduire l'aspiration
	Contamination du mélange de billes, du tampon de lavage, du sérum témoin négatif, ou du conjugué concentré avec l'échantillon positif	Utiliser un nouveau kit
Plaque de filtration bouchée	Présence de particules dans l'échantillon	Centrifuger l'échantillon environ 5 minutes entre 8000 et 12 000 xg

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES SPÉCIFIQUES

Lorsque les kits LSA LIFECODES sont utilisés conformément à la procédure décrite, les résultats révèlent la présence ou l'absence d'anticorps HLA d'isotype IgG. Les essais cliniques ont utilisé les valeurs seuils par défaut LABScreen, les scores >4 étant considérés comme positifs.

LSA Classe I

Le kit LSA LIFECODES Classe I a montré 93,7 % (93,4 %) de concordance pour 151 échantillons avec des antigènes correspondants par rapport aux résultats obtenus avec un unique antigène HLA LABScreen Classe I - Combi., n° réf. LS1A04 (limite inférieure de l'intervalle de confiance unilatéral à 95 %). La valeur IFM observée pour la bille témoin positif dans cet essai était comprise entre 20 015 et 24 036.

LSA Classe II

Le kit LSA LIFECODES Classe II a montré 90,5 % (89,9 %) de concordance pour 150 échantillons avec des antigènes correspondants par rapport aux résultats obtenus avec un unique antigène HLA LABScreen Classe II- Groupe 1, n° réf. LS2A01 (limite inférieure de l'intervalle de confiance unilatéral à 95 %). La valeur IFM observée pour la bille témoin positif dans cet essai était comprise entre 15 442 et 20 563.

RÉFÉRENCES

- 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 (2^e édition). DeNovo, Inc. Durango, CO. 2000; 163.
- McKenna, RM; Takemoto, SK; Terasaki, PI. Anti-HLA Antibodies after Solid Organ Transplantation. Transplantation 2000; 69:319.

REPRÉSENTANT AGRÉÉ

Représentant agréé : Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Allemagne
Téléphone : +49 (0)6103 80560, Télécopie : +49 (0) 6103 8056199



Service technique en Europe : +32/3 385 47 91

Publié le : 2018-12-17