

Documentazione prodotto e traduzioni disponibili all'indirizzo: [www.Immucor.com](http://www.Immucor.com)

## SPECIFICHE DEL PRODOTTO

**LIFECODES LSA™ classe I** è un'analisi di screening Luminex® per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG diretti verso le molecole HLA classe I.

**LIFECODES LSA™ classe II** è un'analisi di screening Luminex® per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG diretti verso le molecole HLA classe II.




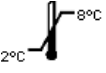



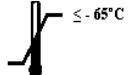


























*Per uso diagnostico in vitro*

### INDICE

<b>Definizione dei simboli</b> .....	1	<b>Procedura</b> .....	3
<b>Impiego previsto</b> .....	2	A. Materiali forniti.....	3
<b>Riepilogo e descrizione</b> .....	2	B. Materiali necessari ma non forniti.....	3
<b>Principi della procedura</b> .....	2	<b>Indicazioni per l'uso</b> .....	4
<b>Reagenti</b> .....	2	<b>Risultati</b> .....	5
A. Identificazione.....	2	<b>Controllo di qualità</b> .....	5
B. Avvertenze e precauzioni.....	2	<b>Limiti della procedura</b> .....	5
C. Istruzioni per la conservazione.....	3	<b>Risoluzione dei problemi</b> .....	6
D. Purificazione o trattamento per l'uso.....	3	<b>Caratteristiche specifiche delle prestazioni</b> .....	6
E. Indicazioni di instabilità.....	3	<b>Riferimenti</b> .....	7
<b>Caratteristiche tecniche dello strumento</b> .....	3		
<b>Raccolta e preparazione dei campioni</b> .....	3		

### DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

(Etichette dei prodotti e documenti aggiuntivi)

Codice del lotto		Numero di catalogo		Utilizzare entro		Gamma di temperatura (conservazione)	
<b>Campione</b>		Produttore		<b>Soglia MFI</b>		Temperatura (conservazione)	
Diluire prima dell'uso		Fotosensibile (Tenere al riparo dalla luce)		Sufficiente per N test		Consultare le istruzioni per l'uso	
Nome del paziente		Numero di identificazione		Data		Tecnico	
Microsfera		Classe I		Classe II		<b>Cutoff</b>	
Fondo		<b>Antigene</b>		Intensità media di fluorescenza		Interpretazione	
Microsfera di controllo negativa		Microsfera di controllo positivo (Immunoglobulina G)		<b>Data prelievo</b>		<b>ID antigene</b>	
<b>Antigene con il rango più basso</b>		<b>MFI/Antigene con il rango più basso</b>		<b>Avvertimento</b>		<b>Limiti osservati</b>	
<b>Densità relativa antigene</b>		<b>Equivalente sierologico</b>					

## IMPIEGO PREVISTO

LIFECODES LSA™ classe I e classe II sono analisi immunologiche a base di microsfere per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG diretti verso gli antigeni HLA.

## RIEPILOGO E DESCRIZIONE

Gli antigeni leucocitari umani (HLA) sono un sistema di glicoproteine con un ruolo funzionale nella presentazione dei peptidi al sistema immunitario.<sup>1,2</sup> Tuttavia, in quanto sistema altamente polimorfo, le molecole HLA possono diventare bersaglio di risposte immunitarie durante la gravidanza, durante la trasfusione di emocomponenti o in caso di rigetto di organi trapiantati. In genere l'alloimmunizzazione determina la produzione di anticorpi HLA all'incirca nel 33% degli individui esposti.<sup>3</sup> La presenza o l'assenza di tali anticorpi specifici degli HLA contribuisce alla determinazione della sopravvivenza degli allotrapianti.<sup>4</sup>

Le microsfere LIFECODES LSA™ classe I sono destinate a individuare gli anticorpi IgG nelle glicoproteine HLA classe I. LSA classe I si compone di diverse microsfere Luminex coniugate con glicoproteine HLA classe I ricombinanti purificate.

Le microsfere LIFECODES LSA™ classe II sono destinate a individuare gli anticorpi IgG nelle glicoproteine HLA classe II. LSA classe II si compone di diverse microsfere Luminex coniugate con glicoproteine HLA classe II ricombinanti purificate.

## PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Un'aliquota di microsfere viene fatta incubare con un piccolo volume di campione di siero. Quindi, le microsfere sensibilizzate vengono lavate per eliminare gli anticorpi non legati. Si aggiungono quindi anticorpi anti-IgG umane coniugati con ficoeritrina. Dopo un'ulteriore incubazione, il campione viene diluito e analizzato sullo strumento Luminex. **L'intensità del segnale generato da ogni microsfera viene confrontata con quella della microsfera con il rango più basso loco-specifica inclusa nella preparazione al fine di determinare se la microsfera stessa è positiva o negativa all'anticorpo legato.**

## REAGENTI

### A. Identificazione

**265100: LSA1 LIFECODES LSA™ classe I è formato da 5 (cinque) componenti in quantità sufficiente per 24 test.**

1. **265103 Miscela di microsfere LSA classe I [LSA1B]** (960 µL): Miscela di microsfere, ciascuna coniugata con una singola glicoproteina HLA classe I diversa, più microsfere di controllo. La soluzione per la conservazione è una soluzione tampone a base di fosfato contenente NaCl, Tween-20, azotidrato di sodio e proteine bovine. FOTOSENSIBILE. Non esporre alla luce per più di tre ore. **Conservare al buio, a ≤ -65 °C.**
2. **265002 Coniugato concentrato LSA [LSACJ]** (120 µL): Anticorpi caprini anti-IgG umane coniugati con ficoeritrina in una soluzione tampone a base di fosfato contenente NaCl, Tween-20 e azotidrato di sodio. **DIL DEVE ESSERE DILUITO 1:10** in soluzione di lavaggio prima dell'utilizzo. FOTOSENSIBILE. Non esporre alla luce diretta per periodi prolungati. Conservare al buio, tra i 2 e gli 8 °C.
3. **628221 [LMWB] Soluzione tampone LIFECODES** (30 mL): Soluzione tampone a base di fosfato contenente NaCl, Tween-20, azotidrato di sodio e albumina di siero bovino. **Conservare a 2-8 °C e portare alla temperatura ambiente (20-24 °C) prima dell'uso.**
4. **265101 Controllo positivo LSA classe I [LSAPC1]** (100 µL): Questo siero o miscela di sieri è ottenuto da individui noti per essere alloimmunizzati agli antigeni HLA e reagisce con la maggioranza delle microsfere LSA classe I. Contiene lo 0,1% di azotidrato di sodio come conservante. Conservare a 2-8 °C.
5. **265102 Controllo negativo LSA classe I [LSANC1]** (100 µL): Questo siero o miscela di sieri è ottenuto da individui noti per non possedere anticorpi agli antigeni HLA e reagisce con pochissime (o nessuna) delle microsfere LSA classe I. Contiene lo 0,1% di azotidrato di sodio come conservante. Conservare a 2-8 °C.

**265200: LSA2 LIFECODES LSA™ classe II è formato da cinque (5) componenti in quantità sufficiente per 24 test.**

1. **265203 Miscela di microsfere LSA classe II [LSA2B]** (960 µL): Miscela di microsfere, ciascuna coniugata con una singola glicoproteina HLA classe II diversa, più microsfere di controllo. La soluzione per la conservazione è una soluzione tampone a base di fosfato contenente NaCl, Tween-20, azotidrato di sodio e proteine bovine. FOTOSENSIBILE. Non esporre alla luce per più di tre ore. **Conservare al buio, a ≤ -65 °C.**
2. **265002 Coniugato concentrato LSA [LSACJ]** (120 µL): Anticorpi caprini anti-IgG umane coniugati con ficoeritrina in una soluzione tampone a base di fosfato contenente NaCl, Tween-20 e azotidrato di sodio. **DIL DEVE ESSERE DILUITO 1:10** in soluzione di lavaggio prima dell'utilizzo. FOTOSENSIBILE. Non esporre alla luce diretta per periodi prolungati. Conservare al buio, tra i 2 e gli 8 °C.
3. **628221 [LMWB] Soluzione tampone LIFECODES** (30 mL): Soluzione tampone a base di fosfato contenente NaCl, Tween-20, azotidrato di sodio e albumina di siero bovino. **Conservare a 2-8 °C e portare alla temperatura ambiente (20-24 °C) prima dell'uso.**
4. **265201 Controllo positivo LSA classe II [LSAPC2]** (100 µL): Questo siero o miscela di sieri è ottenuto da individui noti per essere alloimmunizzati agli antigeni HLA e reagisce con la maggioranza delle microsfere LSA classe II. Contiene lo 0,1% di azotidrato di sodio come conservante. Conservare a 2-8 °C.
5. **265202 Controllo negativo LSA classe II [LSANC2]** (100 µL): Questo siero o miscela di sieri è ottenuto da individui noti per non possedere anticorpi agli antigeni HLA e reagisce con pochissime (o nessuna) delle microsfere LSA classe II. Contiene lo 0,1% di azotidrato di sodio come conservante. Conservare a 2-8 °C.

## B. Avvertenze e precauzioni

1. Per uso diagnostico in vitro.
2. Il materiale di origine umana impiegato nella produzione di questo kit è stato testato con metodi approvati dalla FDA e riscontrato negativo agli anticorpi anti-HIV, HCV e HBsAg. Tuttavia, nessun metodo analitico può garantire completamente l'assenza di agenti infettivi. Pertanto, quando si impiegano questi materiali, **adottare misure universali di sicurezza**.
3. La sostituzione con componenti diversi da quelli forniti nel sistema può causare risultati errati.
4. I reagenti contengono, come conservante, lo 0,1% di azotidrato di sodio che può reagire con le tubazioni in piombo e rame, formando azotidrati metallici esplosivi. Utilizzare grandi quantitativi d'acqua per smaltire i materiali in lavandino.
5. La contaminazione batterica dei campioni o la presenza di immunocomplessi o di altri aggregati immunoglobulinici può provocare un aumento del legame non specifico e risultati errati.
6. Questo prodotto rileva gli anticorpi IgG che possono o meno essere tossici per i linfociti.
7. Non è previsto che questo prodotto rilevi gli anticorpi della classe IgA o IgM dell'immunoglobulina.
8. La determinazione della presenza o assenza degli anticorpi anti-HLA non è l'unico fondamento di una decisione clinica sulla terapia di un paziente. Prima del trapianto si esegue di routine una prova di compatibilità diretta.
9. Questi prodotti sono destinati ad essere utilizzati con lo strumento Luminex, rispettando i suggerimenti del produttore.
10. Dopo l'uso, smaltire tutti i materiali in conformità alle norme vigenti.
11. Per ulteriori informazioni consultare le schede sicurezza.

## C. Istruzioni per la conservazione

1. Per indicazioni per la conservazione, leggere le etichette dei prodotti.
2. Le microsfere e il coniugato sono FOTOSENSIBILI. Non esporre alla luce per più di tre ore.

## D. Purificazione o trattamento per l'uso

1. Vedere "Raccolta e preparazione dei campioni".
2. Il coniugato concentrato deve essere diluito 1:10 in una soluzione di lavaggio prima dell'uso.

## E. Indicazioni di instabilità

1. Non utilizzare componenti o controlli torbidi o scaduti.
2. Dopo l'uso, eliminare tutti i controlli positivi e negativi e il coniugato diluiti ma non utilizzati.

## CARATTERISTICHE TECNICHE DELLO STRUMENTO

Strumento Luminex e piattaforma XY (Lifecodes numero di catalogo 888300, 888302)

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il sangue deve essere raccolto senza anticoagulanti, utilizzando una tecnica asettica e deve essere analizzato mentre è ancora fresco per ridurre al minimo la possibilità di ottenere reazioni falso-positive o falso-negative imputabili a una conservazione errata o alla contaminazione dei campioni. Il siero deve essere conservato a 2-8 °C per non più di 48 ore. **Se siero deve essere conservato per più di 48 ore, deve essere congelato a una temperatura non superiore a -20 °C e può essere conservato fino a 2 anni.** Singoli laboratori dovrebbero stabilire e convalidare metodi per la conservazione dei sieri per più di 2 anni. Se il siero viene conservato o trasportato, è necessario separarlo dai globuli rossi. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni di siero.

Non utilizzare sieri microbiologicamente contaminati, emolizzati o lipemici, in quanto campioni di questo tipo possono produrre risultati contraddittori.

Prima di essere analizzati, tutti i campioni devono essere posti in agitazione orizzontale e centrifugati brevemente (30 secondi a 10.000 g) per corpuscolare il materiale eventualmente presente.

## PROCEDURA

### A. Materiali forniti (per informazioni specifiche, vedere REAGENTI a pagina 2)

- Miscela di microsfere LSA
- Coniugato concentrato
- Soluzione tampone
- Siero di controllo positivo
- Siero di controllo negativo
- Foglio di registrazione
- Foglio formato piastra

### B. Materiali, reagenti e apparecchiature necessari, ma non forniti (come da elenco o equivalenti)

- Pipette regolabili da 5 µL – 50 µL con puntali idonei
- Pipetta multicanale da 250 µL con puntali idonei e serbaioio per tampone
- Provette per microcentrifuga da 1,5 mL per diluizioni del coniugato
- Provette per campioni di pazienti e controlli
- Cronometro
- Pennarello
- **Piastre di filtraggio multiplo Millipore (n. cat. Millipore MSBVN1210, MSBVN1250; n. cat. Lifecodes 888633 o 888633-50)**
- **Liquido di trascinalimento (Sheath Fluid) Luminex (n. cat. Lifecodes 628005)**
- **Kit di calibrazione Luminex (Kit di calibrazione Luminex 100/200, Kit di verifica prestazioni Luminex 100/200, rispettivamente n. cat. Lifecodes 628018 e 628019)**
- Acqua distillata
- **Piattaforma rotante**
- Coperchi adesivi in plastica (n. cat. Corning 6524 o 6570)
- Collettore sotto vuoto con filtro multiplo (n. cat. Millipore MAVM 0960R, n. cat. Qiagen 19504, n. cat. Lifecodes. 888315)

# INDICAZIONI PER L'USO

## PRECAUZIONI

- EVITARE la contaminazione della soluzione tampone e del reagente anti-IgG umane. La contaminazione involontaria di questi reagenti con il siero umano provoca la neutralizzazione degli anticorpi anti-IgG umane e di conseguenza il fallimento dell'analisi.
  - Controllare con cura la forza di aspirazione. L'elevata pressione di aspirazione può far sì che le microsfere aderiscano alla membrana, determinando errori di conteggio.
  - Durante la pipettazione nella piastra di filtraggio, fare attenzione che le microsfere non aderiscano ai lati dei pozzetti della micropiastra. Le microsfere devono essere pipettate nel pozzetto, evitando con cura di toccare la membrana con il puntale. A contatto con il puntale, la membrana può rompersi, determinando il fallimento dell'analisi.
  - Durante le fasi di incubazione, fare attenzione che le microsfere non trabocchino e non aderiscano alle pareti dei pozzetti. Quando si esegue l'analisi per la prima volta, eseguire alcuni controlli positivi e/o negativi al fine di determinare la velocità ottimale della piastra rotante o del mescolatore dell'agitatore magnetico. Per alcuni strumenti, si è rivelata efficace una velocità di circa 200 giri al minuto con un raggio di rotazione di 19 mm.
  - La presenza di livelli significativi di anticorpi non legati al termine della fase di lavaggio, dovuta a siero in eccesso o a un lavaggio inaccurato, può ridurre la capacità dell'analisi di rilevare IgG legate a microsfere sensibilizzate e causare risultati errati.
  - A ogni analisi si devono aggiungere campioni di sieri di controllo positivo e negativo per escludere errori tecnici o inefficienze dei reagenti.
  - Il saggio è validato con 10µL di siero (Protocollo 1) e 20µL di siero (Protocollo 2).
1. Estrarre dal congelatore la miscela di microsfere LSA e conservarla al buio a temperatura ambiente fino al suo completo scongelamento. Successivamente, metterla sotto ghiaccio e proteggerla dalla luce. **NOTA: la miscela di microsfere può essere congelata e scongelata per un massimo di 6 volte senza alcuna compromissione delle prestazioni come indicato nelle Indicazioni d'uso.**
  2. Lasciando gli altri componenti al buio, a una temperatura tra 2 e 8 °C finché necessario, portare la soluzione di lavaggio a temperatura ambiente (da 20 a 24 °C) prima dell'uso. Durante questo periodo, utilizzare il foglio formato piastra per assegnare una posizione sulla piastra a ciascuno dei sieri e dei controlli da analizzare. Usare i sieri di controllo forniti nel kit per illustrare un allosiero positivo largamente reattivo e un siero negativo.
  3. Coprire i pozzetti non assegnati della piastra di filtraggio con coperchi adesivi in plastica. Bagnare i pozzetti da utilizzare con 100-300 µL di acqua distillata. Trascorsi 2-5 minuti, asportare l'acqua aspirando con delicatezza la piastra con il collettore sotto vuoto. (Per un corretto utilizzo, vedere le indicazioni del produttore).
  4. Preparare le microsfere LSA centrifugando per breve tempo (30 secondi) la fiala a 600 – 800 g al fine di rimuovere eventuali microsfere o liquido dal tappo o dalle pareti della fiala. Agitare con l'agitatore magnetico (~1 minuto) per sospendere di nuovo le microsfere in modo uniforme.
  5. Aggiungere 40 µL di microsfere LSA a ciascuno dei pozzetti assegnati. **Agitare nuovamente con l'agitatore magnetico la fiala delle microsfere LSA ogni 2 minuti per mantenere le microsfere in sospensione durante la distribuzione, quindi aggiungere 10 µL di siero del paziente o di siero di controllo (Protocollo 1) o 20 µL di siero del paziente o di siero di controllo (Protocollo 2) e mescolare.**

**ATTENZIONE** È importante mantenere le microsfere in sospensione al fine di garantire che un'aliquota sufficiente di microsfere sia versata nei pozzetti e di assicurare tempi di conteggio minimi. Se le microsfere non vengono agitate con l'agitatore magnetico a intervalli regolari, andranno a depositarsi sul fondo della provetta. Di conseguenza, la concentrazione delle microsfere dispensate nei pozzetti non sarà uniforme, con possibili ripercussioni negative sui tempi di esecuzione e sull'analisi dei risultati.

6. Coprire la piastra con un coperchio adesivo in plastica e proteggerla dalla luce con un foglio di alluminio o con una scatola. **Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20-24 °C) al buio su una piattaforma rotante.** Riporre le porzioni non utilizzate di sieri di controllo a 2-8 °C e conservarle fino a nuovo uso. Riporre le porzioni non utilizzate di miscela di microsfere LSA in un luogo buio a ≤ -65 °C e conservarle fino a nuovo uso.
7. Diluire il coniugato con la soluzione di lavaggio (5 µL di coniugato per 45 µL di soluzione di lavaggio per campione). Per compensare le perdite dovute al pipettamento, si consiglia di preparare 1 (un) volume extra di coniugato diluito. Coprire con un foglio di alluminio e/o conservare al buio e a temperatura ambiente fino a nuovo uso. Riporre la porzione non utilizzata di miscela di coniugato concentrato in un luogo buio a 2-8 °C e conservarla fino a nuovo uso.
8. Dopo 30 minuti di incubazione, togliere il coperchio adesivo in plastica e aggiungere 100 µL di soluzione tampone in ciascun pozzetto. Miscelare per risospendere le sfere e aspirare delicatamente dalla piastra.

**ATTENZIONE** L'impiego di una forza eccessiva di aspirazione farà aderire le microsfere alla membrana deteriorando eventualmente il campione. Per aspirare i campioni, applicare la minima pressione di aspirazione necessaria.

9. Aggiungere 250 µL di soluzione tampone in ogni pozzetto, miscelare per risospendere le sfere, aspirare e ripetere queste operazioni altre due volte, per un totale di tre lavaggi.

**ATTENZIONE** Un lavaggio incompleto può ridurre la capacità del coniugato di rilevare IgG legate a microsfere sensibilizzate e causare risultati falso-negativi.

10. Aggiungere in ciascun pozzetto 50 µL di coniugato diluito. Coprire la piastra con un foglio di alluminio o con una scatola per proteggerla dalla luce. Collocarla su una piattaforma rotante (impostata su 200 giri al minuto) o agitare delicatamente con l'agitatore magnetico ogni 5-10 minuti. Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (da 20 a 24 °C).
11. Con un puntale pulito, aggiungere 130 - 150 µL di soluzione di lavaggio in ogni pozzetto e mescolare per riportare in sospensione le microsfere.
12. Acquisire i dati con lo strumento Luminex rispettando le indicazioni del produttore. Un ritardo di oltre 3 ore può aumentare la possibilità di ottenere reazioni falso-positive o falso-negative. Riporre la porzione non utilizzata di soluzione di lavaggio a 2-8 °C e conservarla fino a nuovo uso.

## RISULTATI

**Riportare sul foglio di registrazione specifico del lotto i valori dell'intensità media di fluorescenza (MFI) per ciascuna microsfera.**

Per determinare se una microsfera è positiva, stabilire per prima cosa se la MFI di ogni microsfera con antigene legato è superiore alla MFI di soglia che si trova sul foglio di registrazione specifico del lotto fornito con il kit. Se la MFI di una microsfera con antigene legato è superiore alla MFI di soglia, dividere la MFI per la MFI dell'antigene con il rango più basso (LRA) del rispettivo locus per generare il rapporto MFI/Antigene con il rango più basso (MFI/LRA). L'LRA di ogni locus è dato dal valore della MFI della microsfera di antigene con il rango più basso di tale locus.

Esempio:  $\frac{\text{MFI singola microsfera}}{\text{MFI LRA per locus "1"}} = \text{MFI/LRA dell'antigene "x" dal locus "1"}$

$\frac{\text{MFI singola microsfera}}{\text{MFI LRA per locus "2"}} = \text{MFI/LRA dell'antigene "y" dal locus "2"}$

$\frac{\text{MFI singola microsfera}}{\text{MFI LRA per il locus "3"}} = \text{MFI/LRA dell'antigene "z" dal locus "3"}$

Consultare il foglio di registrazione specifico del lotto fornito con il kit per reperire l'elenco degli antigeni presenti su ciascuna microsfera e il valore di cutoff consigliato per la stima del risultato positivo/negativo con ogni microsfera con antigene legato. Una microsfera con antigene legato viene considerata positiva se il valore della MFI è superiore al valore di soglia e il rapporto MFI/LRA è superiore al valore di cutoff.

## CONTROLLO DI QUALITÀ

Il controllo di qualità di LSA classe I e classe II è integrato nel sistema di analisi mediante l'inclusione dei sieri di controllo positivo e negativo. Aggiungere questi controlli a ogni analisi per escludere errori tecnici o inefficienze dei reagenti. I sieri di controllo positivi reagiscono a un grande numero di microsfere coniugate HLA generando un pattern simile a quello riportato nel foglio di registrazione specifico del lotto. I sieri di controllo negativo saranno negativi e reagiranno con pochissime (o nessuna) delle microsfere coniugate HLA generando valori di MFI  $\leq 1000$ .

La serie di microsfere comprende microsfere di controllo per monitorare le prestazioni di ciascun campione. La microsfera di controllo positivo è rivestita con IgG umane e deve dare valori di MFI  $\geq 10.000$  con i sieri di controllo. Se si ottengono valori di MFI inferiori a 10.000 con i sieri di controllo, la dose può non essere stata lavata a sufficienza, o il coniugato potrebbe essere compromesso. I campioni dei pazienti mostrano un'ampia gamma di valori di reattività con la microsfera di controllo positiva, ma devono dare valori di MFI  $\geq 10.000$ . La microsfera di controllo negativa deve mostrare bassi valori di MFI con i sieri di controllo. Vedere nel foglio di registrazione specifico i limiti delle microsfere di controllo osservati con i sieri di controllo.

Il saggio deve essere condotto come consigliato nell'insero della confezione ed eseguito rispettando tutte le altre procedure di controllo qualità conformi alle norme vigenti e/o a quelle degli enti di omologazione.

## LIMITI DELLA PROCEDURA

Risultati errati possono essere causati da contaminazione batterica del materiale di analisi, periodi di incubazione inadeguati, errori di lavaggio o di decantazione delle microsfere, esposizione del coniugato alla luce diretta, oppure omissione di reagenti o fasi dell'analisi.

La presenza di immunocomplessi o di altri aggregati immunoglobulinici nel campione del paziente può causare un aumento del legame aspecifico e generare risultati errati.

Gli anticorpi rilevati dai kit LSA sono quelli reattivi nell'ambito della popolazione di antigeni disponibili elencata nel foglio di registrazione.

Le glicoproteine LIFECODES Single Antigen HLA classe I e II sono derivate da linee cellulari esprimenti singoli antigeni HLA.

Le analisi LIFECODES Single Antigen non sono in grado di rilevare alcune IgG a bassa avidità o titolazione, IgA, IgM e anticorpi monospecifici diretti verso antigeni non inclusi nel pannello.

I titoli degli anticorpi sierici sono specifici in termini di punti temporali e di paziente. Se molte delle microsfere generano valori di MFI superiori a 15.000, può essere necessario provvedere alla diluizione dei sieri per migliorare la determinazione degli anticorpi IgG.

A causa della natura complessa dell'analisi HLA, l'interpretazione dei dati deve essere affidata a personale qualificato. La determinazione della specificità degli anticorpi mediante l'uso dei kit LSA deve tenere in considerazione i risultati di tutte le microsfere, incluse quelle esibenti valori pari o simili al cutoff. La conoscenza dell'anamnesi del paziente e la comprensione dei gruppi a reazione incrociata possono risultare utili ai fini dell'assegnazione della specificità a un siero specifico.

## RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

PROBLEMA	CAUSA POSSIBILE	SOLUZIONE
Numero basso di microsfere	La miscela di microsfere non è completamente in sospensione	Agitare a impulsi con l'agitatore magnetico per completare la sospensione
	Errori dello strumento – non calibrato	Consultare il manuale dello strumento
	Errori dello strumento – flusso del campione bloccato	Consultare il manuale dello strumento
	Microsfere fotoscolorite	Usare un nuovo kit
	Eccessiva pressione di aspirazione/microsfere che aderiscono alla membrana	Ridurre la forza di aspirazione; le piastre di filtraggio multiplo Millipore raccomandano una pressione di aspirazione di 271-406 mbar (8-12 pollici Hg)
Superamento soglia di controllo microsfere di controllo negative (NC) con sieri di controllo	Lavaggio insufficiente	Ripetere e controllare le operazioni di lavaggio
	È stato aggiunto un campione errato	Ripetere con un campione di controllo corretto
Errore soglia di controllo microsfere di controllo positive (PC) con sieri di controllo	Coniugato compromesso, ad es. fotoscolorito	Usare un nuovo kit
	Lavaggio insufficiente	Ripetere e controllare le operazioni di lavaggio
	È stato aggiunto un campione errato	Ripetere con un campione di controllo corretto
Errore soglia di controllo microsfere di controllo positive (PC) con campione del paziente	Coniugato compromesso, ad es. fotoscolorito	Usare un nuovo kit
	Lavaggio insufficiente	Ripetere e controllare le operazioni di lavaggio
Pattern anomalo per i sieri di controllo positivi	È stato aggiunto un campione errato	Ripetere con un campione di controllo corretto
	Lavaggio insufficiente	Ripetere e controllare le operazioni di lavaggio
Assegnazione positiva per sieri di controllo negativi (microsfere coniugate >2 HLA) o MFI >1000.	È stato aggiunto un campione errato	Ripetere con un campione di controllo corretto
	Lavaggio insufficiente	Ripetere e controllare le operazioni di lavaggio per accertarsi che le microsfere vengano rimesse in sospensione durante il lavaggio Ridurre la forza di aspirazione
	Contaminazione miscela di microsfere, soluzione di lavaggio, sieri di controllo negativi o coniugato concentrato con campione positivo	Usare un nuovo kit
Piastra di filtraggio ostruita	Particolato presente nel campione	Centrifugare i campioni per circa 5 minuti a 8.000 – 12.000 g

## CARATTERISTICHE SPECIFICHE DELLE PRESTAZIONI

Quando i kit LIFECODES LSA vengono utilizzati conformemente alla procedura descritta, i risultati rivelano la presenza o l'assenza di anticorpi HLA IgG. I test clinici hanno usato i valori predefiniti di cutoff LABScreen considerando positivi i punteggi >4.

### LSA Class I

Il kit LIFECODE LSA Classe I ha evidenziato un accordo del 93,7% (93,4%) su 151 campioni con antigeni corrispondenti rispetto ai risultati ottenuti con i kit LABScreen Single Antigen HLA Class I- Combi, n. cat. LS1A04 (limite inferiore dell'intervallo di confidenza unilaterale del 95%).

### LSA Class II

Il kit LIFECODES LSA Classe II ha evidenziato un accordo del 90,5% (89,9%) su 150 campioni con antigeni corrispondenti rispetto ai risultati ottenuti con i kit LABScreen Single Antigen HLA Class II- Group 1, n. cat. LS2A01 (limite inferiore dell'intervallo di confidenza unilaterale del 95%).

## RIFERIMENTI

---

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 (2<sup>nd</sup> Edition). 2000; 163.
4. McKenna, RM; Takemoto, SK; Terasaki, PI. Anti-HLA Antibodies after Solid Organ Transplantation. Transplantation 2000; 69:319.

## PRODUTTORE E RAPPRESENTANTE AUTORIZZATO

---

**Produttore:** Immucor Transplant Diagnostics, Inc., 550 West Avenue, Stamford, CT 06902 USA.  
Telefono: 855.IMMUCOR o 777.225.8790 (Internazionale), Fax: +203-328-9599

**Rappresentante autorizzato:** Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Germania  
Telefono: +49 (0)6103 80560, Fax: +49 (0) 6103 8056199

**Servizio di assistenza tecnica in Europa:** +32/3 385 47 91

**Publicato:** Rev.1, 2017-24-gennaio

