

Documentação e traduções do produto disponíveis em: www.Immucor.com

FOLHETO INFORMATIVO DO PRODUTO

LIFECODES LSA™ Classe I: Um teste por filtração Luminex® para detecção qualitativa de anticorpos IgG a moléculas HLA Classe I.

LIFECODES LSA™ Classe II: Teste por filtração Luminex® para a detecção qualitativa de anticorpos IgG a moléculas HLA Classe II.




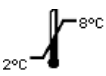



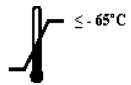


























Para utilização em diagnóstico in vitro

ÍNDICE

Definição dos símbolos	1	Procedimento	3
Utilização prevista	1	A. Materiais fornecidos.....	3
Resumo e explicação	2	B. Materiais necessários não fornecidos...	3
Princípios do procedimento	2	Instruções de utilização	4
Reagentes	2	Resultados	5
A. Identificação.....	2	Controlo de qualidade	5
B. Avisos e advertências.....	3	Limitação do procedimento	5
C. Instruções de armazenamento.....	3	Resolução de problemas	6
D. Purificação ou tratamento para utilização.....	3	Características específicas do	
E. Indicações de instabilidade.....	3	desempenho	6
Requisitos do instrumento	3	Bibliografia	6
Colheita e preparação de amostras	3		

DEFINIÇÃO DOS SÍMBOLOS

(Etiquetas do produto e documentos suplementares)

Código do lote		Número de referência		Prazo de validade		Intervalo de temperaturas (armazenamento)	
Amostra		Fabricante		Limiar da mediana da intensidade de fluorescência		Temperatura (armazenamento)	
Diluir antes de utilizar		Sensível à luz (Conservar ao abrigo da luz)		Suficiente para N testes		Consulte as instruções de utilização	
Nome do doente		Número de identificação		Data		Técnico	
Esfera		Classe I		Classe II		Cut-off	
Histórico		Antígeno		Mediana da intensidade da fluorescência		Interpretação	
Esfera de controlo negativo		Esfera de controlo positivo (Imunoglobina G)		Data da colheita de sangue		ID do Antígeno	
Antígeno de Classificação mais Baixa		Mediana da intensidade da fluorescência / Antígeno com a Classificação mais Baixa		Advertência		Limites Observados	
Densidade Relativa do Antígeno		Equivalente Sorológico					

UTILIZAÇÃO PREVISTA

LIFECODES LSA™ Classe I e Classe II são imunoenaios baseados em esferas, utilizados para detectar qualitativamente anticorpos IgG HLA.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os antígenos leucocitários humanos (HLA) são um sistema de glicoproteínas que têm um papel funcional na apresentação de péptidos no sistema imunológico.^{1,2} Contudo, como um sistema altamente polimórfico, as moléculas de HLA podem tornar-se o alvo das respostas por anticorpos em pessoas durante a gravidez, transfusão de produtos sanguíneos ou rejeição de órgãos transplantados. Geralmente, a aloimunização conduz à produção de anticorpos específicos ao HLA em aproximadamente 33% dos indivíduos expostos.³ A presença ou ausência destes anticorpos específicos ao HLA tem um papel na determinação da sobrevivência dos alotransplantes.⁴

As esferas LIFECODES LSA™ Classe I são concebidas para detectar anticorpos IgG a glicoproteínas HLA Classe I. O LSA Classe I é composto por diferentes esferas Luminex, com as quais se conjugam as glicoproteínas HLA Classe I recombinantes purificadas.

As esferas LIFECODES LSA™ Classe II são concebidas para detectar anticorpos IgG a glicoproteínas HLA Classe II. O LSA Classe II é composto por diferentes esferas Luminex, com as quais se conjugam as glicoproteínas HLA Classe II recombinantes purificadas.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Deixa-se incubar uma alíquota das esferas com um pequeno volume da amostra do soro de teste. As esferas sensibilizadas são depois lavadas para remoção do anticorpo não fixado. É então acrescentado um anticorpo IgG anti-humana conjugada com picoeritrina. Após outra incubação, a amostra de teste é diluída e analisada no instrumento Luminex. **A intensidade do sinal de cada esfera é comparada com a intensidade do sinal da esfera específica do locus de classificação mais baixa incluída na preparação da esfera, para determinar se a esfera é positiva ou negativa para o alo-anticorpo ligado.**

REAGENTES

A. Identificação

265100: LSA1 LIFECODES LSA™ Classe I é composto por cinco (5) componentes em quantidades suficientes para 24 testes.

- 265103 Mistura de esferas LSA Classe I LSA1B** (960 µL): Uma combinação de esferas, cada uma conjugada com uma glicoproteína HLA Classe I diferente, mais esferas de controlo. O tampão de memória é um tampão de fosfato que contém NaCl, Tween-20, azida de sódio e proteínas de bovinos. SENSÍVEL À LUZ. A exposição à luz não deve exceder as três horas. **Conservar no escuro a ≤ -65°C.**
- 265002 Conjugado Concentrado LSA LSACJ** (120 µL): IgG de cabra anti-humana conjugada com picoeritrina num tampão de memória de fosfato contendo NaCl, Tween-20 e azida de sódio. **DIL** DEVE SER DILUÍDO na proporção de 1:10 na solução tampão antes de ser utilizado. SENSÍVEL À LUZ. Não permitir a exposição directa à luz durante períodos prolongados. Conservar entre 2 e 8 °C no escuro.
- 628221 LMWB Tampão de Lavagem LIFECODES** (30 mL): Um tampão à base de fosfato que contém NaCl, Tween-20, azida de sódio e albumina sérica bovina. Conservar entre 2 e 8°C e equilibrar à temperatura ambiente (20-24°C) antes de utilizar.
- 265101 Controlo positivo LSA Classe I LSAPC1** (100 µL): Este soro ou mistura de soros obtém-se de indivíduo ou indivíduos que mostrem ser aloimunizados aos antígenos HLA, e reage com a maior parte das esferas LSA Classe I. Contém 0,1 % de azida de sódio como conservante. Armazenar entre 2 e 8 °C.
- 265102 Controlo negativo LSA Classe I LSANC1** (100 µL): Este soro ou mistura de soros obtém-se de indivíduo ou indivíduos que revelaram não ter anticorpos aos antígenos HLA, e reage com algumas, ou nenhuma, das esferas LSA Classe I. Contém 0,1 % de azida de sódio como conservante. Armazenar entre 2 e 8 °C.

265200: LSA2 LIFECODES LSA™ Classe II é composto por cinco (5) componentes em quantidades suficientes para 24 testes.

- 265203 Mistura de esferas LSA Classe II LSA2B** (960 µL): Uma combinação de esferas, cada uma conjugada com uma glicoproteína HLA Classe II diferente, mais esferas de controlo. O tampão de memória é um tampão de fosfato que contém NaCl, Tween-20, azida de sódio e proteínas de bovinos. SENSÍVEL À LUZ. A exposição à luz não deve exceder as três horas. **Conservar no escuro a ≤ -65°C.**
- 265002 Conjugado Concentrado LSA LSACJ** (120 µL): IgG de cabra anti-humana conjugada com picoeritrina num tampão de memória de fosfato contendo NaCl, Tween-20 e azida de sódio **DIL** DEVE SER DILUÍDO na proporção de 1:10 na solução tampão antes de ser utilizado. SENSÍVEL À LUZ. Não permitir a exposição directa à luz durante períodos prolongados. Conservar entre 2 e 8 °C no escuro.
- 628221 LMWB Tampão de Lavagem LIFECODES** (30 mL): Um tampão à base de fosfato que contém NaCl, Tween-20, azida de sódio e albumina sérica bovina. Conservar entre 2 e 8°C e equilibrar à temperatura ambiente (20-24°C) antes de utilizar.
- 265201 Controlo positivo LSA Classe II LSAPC2** (100 µL): Este soro ou mistura de soros obtém-se de indivíduo ou indivíduos que mostrem ser aloimunizados aos antígenos HLA, e reage com a maior parte das esferas LSA Classe II. Contém 0,1 % de azida de sódio como conservante. Armazenar entre 2 e 8 °C.
- 265202 Controlo negativo LSA Classe II LSANC2** (100 µL): Este soro ou mistura de soros obtém-se de indivíduo ou indivíduos que revelaram não ter anticorpos aos antígenos HLA, e reage com algumas, ou nenhuma, das esferas LSA Classe II. Contém 0,1 % de azida de sódio como conservante. Armazenar entre 2 e 8 °C.

B. Avisos ou Advertências

1. Para utilização do diagnóstico in vitro
2. O material de origem humana usado na produção deste kit foi testado através de métodos aprovados pela FDA e considerado negativo quanto a anticorpos para HIV, HCV e HBsAg. No entanto, nenhum método de teste pode oferecer segurança completa quanto à ausência de agentes infecciosos. Por essa razão, **observe as Precauções Universais** quando trabalhar com estes materiais.
3. A substituição de componentes por outros que não fazem parte deste sistema pode dar origem a resultados erróneos.
4. Os reagentes contêm 0,1% de azida de sódio como conservante, que pode reagir com canalizações de chumbo e cobre e formar azidas de metal potencialmente explosivas. Utilize grandes quantidades de água quando eliminar materiais através do lavatório.
5. A contaminação bacteriológica de amostras ou a presença de imunocomplexos ou outros agregados de imunoglobulina podem causar ligação não específica aumentada e resultados erróneos.
6. Este produto detecta anticorpos IgG que podem ser ou não ser linfocitotóxicos.
7. Não se prevê que este produto detecte anticorpos de imunoglobulina das classes IgA ou IgM.
8. A determinação da presença ou ausência de anticorpos a HLA não constitui a única base para uma decisão clínica que afecte o tratamento do doente. É efectuado rotineiramente um crossmatch final antes do transplante.
9. Estes produtos são concebidos para utilização com o instrumento Luminex em conformidade com as recomendações do fabricante.
10. Eliminar todos os materiais após a utilização de acordo com a regulamentação local.
11. Ver informação nas folhas de dados relativa à segurança do material.

C. Instruções de Armazenamento

1. Consultar as indicações de armazenamento nas etiquetas do produto.
2. As esferas e os conjugados são SENSÍVEIS À LUZ. A exposição à luz não deve exceder as três horas.

D. Purificação ou tratamento para utilização

1. Consultar "Colheita e preparação de amostras".
2. O conjugado concentrado deve ser diluído na proporção de 1:10 na solução tampão antes de ser utilizado.

E. Indicações de Instabilidade

1. Não utilizar os componentes ou controlos que estejam turvos ou cujo prazo de validade tenha expirado.
2. Eliminar todos os controlos diluídos positivos ou negativos não utilizados, e conjugar após a utilização.

REQUISITOS DO INSTRUMENTO

Instrumento Luminex e Plataforma XY (Número de Produto Lifecodes 888300, 888302)

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

O sangue deve ser colhido sem anticoagulante, usando técnica asséptica, e deve ser testado ainda fresco para minimizar a possibilidade de obter reacções falso-positivas ou falso-negativas devido a armazenamento incorrecto ou contaminação da amostra. O soro deve ser conservado entre 2 e 8 °C, por um período não superior a 48 horas. **Se soro for armazenado para além de 48 horas, este deve ser congelado a -20 ° C ou a uma temperatura inferior até 2 anos.** Laboratórios individuais devem estabelecer e validar métodos para armazenar soros para mais de 2 anos. O soro deve ser separado dos glóbulos vermelhos quando for armazenado ou transportado. Evitar a congelação e descongelação repetidas das amostras de soro.

Não utilizar soros com contaminação microbiana, hemolizados ou lipémicos, uma vez que estas amostras poderão originar resultados inconsistentes.

Antes do ensaio, todas as amostras deverão ser agitadas com brevidade num agitador tipo vórtex (30 segundos a 10,000 x g) por forma a sedimentar qualquer matéria particulada que possa estar presente.

PROCEDIMENTO

A. Materiais Fornecidos (para informação mais específica, ver REAGENTES na página 3)

- Esferas LSA
- Conjugado Concentrado
- Solução Tampão
- Soro Controlo Positivo
- Soro Controlo Negativo
- Ficha de Registo
- Folhas de Formato das Placas

B. Materiais, reagentes e equipamentos necessários mas não fornecidos (conforme indicado ou equivalente)

- Pipetas ajustáveis de 5 µl – 50 µl com pontas de pipeta adequadas
- Pipeta multicanal de 250 µl com pontas a condizer e bebedouro do tampão
- Tubos de microcentrifugadora de 1,5 ml para as diluições do conjugado
- Tubos de teste para amostras de doentes e de controlo
- Temporizador
- Caneta-marcador
- **Placas de filtro multifiltro Millipore (Millipore Catálogo nº MSBVN1210, MSBVN1250, Lifecodes Catálogo nº 888633 ou 888633-50)**
- Distribuidor de vácuo multifiltro (Millipore N.º de ref.ª MAVM 0960R ou Qiagen N.º de ref.ª 19504, Lifecodes N.º de ref.ª 888315)
- **Estojo de Fluido Luminex (Lifecodes Catálogo nº 628005)**
- **Kits de Calibração Luminex (Kit de Calibração Luminex 100/200, Kit de Verificação de Desempenho Luminex 100/200, Lifecodes Catálogo nº 628018 e 628019 respectivamente)**
- Água destilada
- **Plataforma rotativa**
- **Coberturas plásticas adesivas (Corning Catálogo nº 6524 ou 6570)**

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

PRECAUÇÕES:

- DEVE-SE ter cuidado para evitar a contaminação da solução tampão e do reagente IgG anti-humana. A contaminação inadvertida destes reagentes com soro humano resultará na neutralização da IgG anti-humana e, conseqüentemente, resultará na falha do teste.
- O controlo da força do vácuo deve ser feito com precaução. A pressão elevada de vácuo pode provocar a aderência das esferas à membrana, induzindo a erro na contagem das esferas.
- Devem ser tomadas precauções durante a pipetagem para a placa de filtro para que as esferas não adiram às partes laterais dos poços das microplacas. As esferas devem ser pipetadas para dentro do poço tendo o cuidado de não tocar na membrana com a ponta. O contacto da ponta da pipeta com a membrana poderá causar perfuração da membrana e, conseqüentemente, a falha do ensaio.
- Devem ser tomadas precauções para que, durante os passos da incubação, as esferas não salpiquem e não adiram às partes laterais dos poços. Ao executar o ensaio pela primeira vez, deve executar alguns controlos positivos e/ou negativos para determinar a velocidade ideal da plataforma rotativa ou do misturador tipo vórtex. Uma velocidade de aproximadamente 200 rotações por minuto **com um tamanho da órbita de 19mm** tem demonstrado ser eficaz com alguns instrumentos.
- A presença de níveis significativos de anticorpo não fixado na finalização da lavagem, devido a soro em excesso ou a uma lavagem deficiente, pode reduzir a capacidade de detecção de IgG ligada a esferas sensibilizadas, causando resultados erróneos.
- Amostras de soros de controlo positivos e negativos devem ser incluídas com cada teste, para ajudar a determinar se ocorreram erros técnicos ou falhas do reagente.
- **O ensaio foi validado com 10µL de soro (Protocolo 1) e 20µL de soro (Protocolo 2).**

1. Retire a mistura de esferas LSA do congelador e guarde à temperatura ambiente em local escuro até descongelar. A seguir, coloque no gelo e conserve ao abrigo da luz. **NOTA: A mistura de esferas pode ser congelada e descongelada no máximo 6 vezes sem afectar o desempenho conforme indicado na Utilização Prevista.**
2. Deixando os outros componentes entre 2 e 8 °C no escuro até serem necessários, deixe a solução tampão atingir a temperatura ambiente (20 a 24 °C) antes da utilização. Durante este tempo, utilize a Ficha de Formato da Placa para atribuir uma posição na placa para cada um dos soros e controlos a analisar. Os soros de controlo fornecidos no kit são utilizados para ilustrar um alo-anticorpo positivo largamente reactivo e um soro negativo.
3. Cubra os poços da placa de filtro não atribuídos com cobertura plástica adesiva. Molhe previamente os poços a utilizar com 100-300 µl de água destilada. Após 2 a 5 minutos, retire a água por meio de aspiração cuidadosa da placa, utilizando o distribuidor de vácuo. (Consulte as recomendações do fabricante para uma utilização correcta).
4. Prepare as esferas LSA centrifugando com brevidade (30 segundos) o frasco a 600 – 800 x g, para remover quaisquer esferas ou líquido que tenham ficado na tampa ou nas paredes do frasco. Agite bem em vórtice (~1 minuto) para voltar a suspender as esferas com uma distribuição uniforme.
5. Adicione 40 µl de grânulos LSA a cada um dos poços atribuídos. **Volte a agitar em vórtice o frasco de grânulos LSA a cada 2 minutos para manter as esferas em suspensão enquanto estiver a distribuir as esferas, e de seguida adicione 10 µL do soro do doente e soros controlo (Protocolo 1) ou 20 µL do soro do doente e soros controlo (Protocolo 2) e misture.**

ATENÇÃO: É importante manter as esferas em suspensão para assegurar que são aplicadas esferas suficientes nos poços, e para garantir tempos baixos de contagem. A ausência de agitação intermitente em vórtice das esferas provocará a sedimentação destas no fundo do tubo. Isto provocará uma diferença na quantidade de esferas dispensadas nos poços, o que poderá afectar adversamente os tempos de execução e a análise dos resultados.

6. Cubra a placa com a cobertura plástica adesiva, embrulhando-a depois em folha de alumínio ou colocando-a numa caixa para conservar ao abrigo da luz. **Incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente (20-24 °C) no escuro, numa plataforma rotativa.** Volte a armazenar a porção não utilizada de soros de controlo entre 2 e 8 °C, para futura utilização. Volte a armazenar as porções não utilizadas da mistura de esferas LSA a **≤ 65 °C** no escuro, para futura utilização.
7. Dilua o conjugado com solução tampão (5 µl de conjugado para 45 µl de solução tampão por amostra). Para compensar as perdas na pipetagem, convém fazer um (1) volume extra de conjugado diluído. Cubra com folha de alumínio e/ou armazene no escuro à temperatura ambiente até ser utilizado. Volte a armazenar a porção não utilizada de conjugado concentrado entre 2 e 8 °C no escuro, para futura utilização.
8. Após a incubação de 30 minutos, retire a cobertura plástica adesiva e adicione 100 µl de solução tampão a cada poço. Misture para voltar a suspender os grânulos e aspire suavemente a placa.

ATENÇÃO: A utilização de elevada pressão de vácuo irá provocar a aderência das esferas à membrana, e poderá resultar na falha da amostra. Para aspiração das amostras, aplique a pressão mínima de vácuo.

9. Adicione 250 µl de solução tampão a cada poço, misture para voltar a suspender os grânulos, aspire e repita mais duas vezes, para um total de três lavagens.

ATENÇÃO: Caso a lavagem não seja devidamente feita, a capacidade de o conjugado detectar IgG ligada a esferas sensibilizadas poderá ficar reduzida, dando origem a resultados falso-negativos.

10. Adicione 50 µl de conjugado diluído a cada poço. Cubra a placa com folha de alumínio, ou coloque em caixa para a conservar ao abrigo da luz. Coloque numa plataforma rotativa (ajustada em 200 rotações por minuto) ou agite em vórtice ligeiramente cada 5 a 10 minutos. Incube durante 30 minutos à temperatura ambiente (20 a 24 °C).
11. Utilizando uma ponta de pipeta limpa, adicione 130 µl de solução tampão a cada poço e misture para voltar a suspender as esferas.
12. Recolha os dados com o instrumento Luminex seguindo as recomendações do fabricante. Atrasos superiores a 3 horas podem aumentar a possibilidade de obter reacções falso-positivas ou falso-negativas. Volte a armazenar a porção não utilizada de solução tampão entre 2 e 8 °C no escuro, para futura utilização.

RESULTADOS

Insira os valores brutos da Mediana da Intensidade de Fluorescência (MFI) para cada esfera na Folha de Registo específica do lote.

Para determinar se a esfera é positiva, primeiro deve avaliar se a MFI para cada antígeno ligado à esfera está acima do Limiar da MFI indicado na Folha de Registo específica do lote, fornecida com este kit. Se um antígeno ligado à esfera estiver acima do Limiar da MFI, deve dividir a MFI pela MFI do Antígeno de Classificação mais Baixa (LRA) do seu respectivo locus, para gerar a proporção MFI/Antígeno de Classificação mais Baixa (MFI/LRA). O LRA para cada locus é o valor da MFI da esfera de antígeno de classificação mais baixa para esse locus.

Exemplo: $\frac{\text{MFI de Esfera Individual}}{\text{LRA MFI para o locus "1"}} = \text{MFI/LRA para o antígeno "x" do locus "1"}$

$\frac{\text{MFI de Esfera Individual}}{\text{LRA MFI para o locus "2"}} = \text{MFI/LRA para o antígeno "y" do locus "2"}$

$\frac{\text{MFI de Esfera Individual}}{\text{LRA MFI para o locus "3"}} = \text{MFI/LRA para o antígeno "z" do locus "3"}$

Consulte a Folha de Registo específica do lote, fornecida com o kit, para ver a lista de antígenos presentes em cada esfera e o cut-off para determinar o resultado positivo/negativo para cada esfera ligada a antígeno. Uma esfera ligada a antígeno é considerada positiva se o seu valor da MFI estiver acima do Limiar da MFI e a proporção MFI/LRA estiver acima do valor cut-off.

CONTROLO DE QUALIDADE

O controlo de qualidade do LSA Classe I e Classe II está integrado no sistema de teste pela inclusão de soros de controlo positivo e negativo. Estes controlos devem ser incluídos com cada execução de teste, para ajudar a determinar se ocorreram erros técnicos ou falhas do reagente. Os Soros de Controlo Positivo vão reagir com um grande número de esferas conjugadas com HLA, gerando um padrão semelhante a aquele encontrado na Folha de Registo específica do lote. Os soros do controlo negativo vão ser negativos e reagir com poucas ou até nenhuma das esferas conjugadas com HLA, gerando valores da MFI ≤ 1000 .

Os conjuntos de esferas incluem esferas de controlo para a monitorização do desempenho de cada amostra. A esfera de controlo positivo tem um revestimento de IgG humana e deve produzir valores de MFI $\geq 10,000$ com os soros de controlo. Se forem obtidos valores inferiores a 10,000 MFI com os soros de controlo, a lavagem do ensaio poderá ter sido insuficiente ou o conjugado poderá não estar bom. As amostras de doentes mostram uma ampla gama de reactividade com a Esfera de Controlo Positivo, mas devem produzir um sinal da MFI $\geq 10,000$. A Esfera de Controlo Negativo deve ter valores baixos da MFI com os soros de controlo. Consulte a Folha de Registo específica do lote para ver os limites observados para as esferas de controlo com os soros de controlo.

O ensaio deve ser executado conforme recomendado na folha de dados, devendo igualmente ser executado com quaisquer outros procedimentos de controlo de qualidade que estejam em conformidade com os requisitos locais, estaduais, federais e/ou das agências de acreditação.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Podem ocorrer resultados erróneos devido a contaminação bacteriológica dos materiais de teste, períodos de incubação incorrectos, lavagem ou decantação incorrectas das esferas, exposição do conjugado a luz acidental ou omissão de reagentes ou de passos do teste.

A presença de imunocomplexos ou outros agregados de imunoglobulina na amostra do doente pode causar uma ligação não específica aumentada e produzir resultados erróneos no ensaio.

Os anticorpos detectados pelos kits LSA são os reactivos incluídos na população de antígenos disponíveis, indicados na Ficha de Registo.

As glicoproteínas LIFECODES com um único antígeno HLA Classe I e II foram obtidas de linhas de células expressando antígenos HLA únicos.

Alguma IgG com avidéz baixa ou títulos baixos, IgA, IgM e anticorpos mono-específicos a antígenos não incluídos no quadro não serão detectados com os testes LIFECODES de antígeno único.

Os títulos de anticorpos no soro são específicos do doente e de tempo. Se muitas esferas produzirem valores de MFI acima de 15.000, poderá ser necessário diluir os soros para uma melhor detecção dos anticorpos IgG.

Devido à natureza complexa dos testes a antígenos HLA, a interpretação dos dados deve ser verificada por pessoal qualificado. A determinação da reactividade de anticorpos utilizando kits LSA deverá tomar em consideração os resultados de todas as esferas, incluindo aquelas que possam estar no valor cut-off ou próximo deste. O conhecimento do histórico do doente, assim como a compreensão dos grupos com reactividade cruzada, podem ser úteis na atribuição da especificidade a um determinado soro.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

PROBLEMA	CAUSA POSSÍVEL	SOLUÇÃO
Baixa contagem de esferas	Suspensão deficiente da mistura das esferas	Impulsionar o vórtex para voltar a suspender completamente
	Falhas do instrumento - descalibrado	Ver o Manual do Instrumento
	Falhas do instrumento - passagem da amostra bloqueada	Ver o Manual do Instrumento
	Foto-descoloração das esferas	Utilizar novo kit
	Pressão de vácuo demasiado forte/esferas coladas à membrana	Diminuir a força do vácuo; As Placas de Filtro Multi-rastreio Millipore recomendam um vácuo de 271-406 millibar (8-12 polegadas Hg)
Esfera de Controlo Negativo (NC) Limiar Ultrapassado com os Soros Controlo	Má lavagem	Repita e monitorize as lavagens
	Amostra incorrecta adicionada	Repita com a amostra controlo correcta
Esfera de Controlo Positivo (PC) Limiar Ultrapassado com os Soros Controlo	Conjugado comprometido, p.ex. foto-descoloração	Utilize um kit novo
	Má lavagem	Repita e monitorize as lavagens
	Amostra incorrecta adicionada	Repita com a amostra controlo correcta
Esfera de Controlo Positivo (PC) Falha de Liminar com a Amostra do Doente	Conjugado comprometido, p.ex. foto-descoloração	Utilize um kit novo
	Má lavagem	Repita e monitorize as lavagens
Padrão anómalo para os soros de controlo positivo	Amostra incorrecta adicionada	Repetir com a amostra de controlo correcta
	Lavagem deficiente	Repetir e verificar as lavagens
Resultado Positivos para Soros de Controlo Negativo (>2 esferas conjugadas com HLA) ou MFI > 1000.	Amostra incorrecta adicionada	Repetir com a amostra controlo correcta
	Má lavagem	Repita e monitorize as lavagens para garantir que as esferas são ressuspendidas durante a lavagem Reduza a força do vácuo
	Contaminação da Mistura de Esferas, do Tampão de Lavagem, dos Soros de Controlo Negativo ou do Concentrado de Conjugados com a amostra positiva	Utilize um kit novo
Placa do filtro entupida	Existem partículas na amostra	Centrifugue a amostra durante aproximadamente 5 minutos entre 8,000 – 12,000xg

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DO FUNCIONAMENTO

Quando os kits LIFECODES LSA são utilizados de acordo com o procedimento descrito, os resultados revelam a presença ou ausência de anticorpos HLA IgG. Testes clínicos com o uso de valores cut-off pré-definidos da LABScreen, sendo que valores > 4 são considerados positivos.

LSA Classe I

O kit de LSA Classe I de LIFECODES demonstrou 93,7% (93,4%) concordância para 151 amostras com antígenos correspondentes quando comparado com os resultados obtidos com o uso de LABScreen Antígeno Único HLA Classe I- Combi, Catálogo nº LS1A04 (limite de confiança inferior 95% unilateral).

LSA Classe II

O kit de LSA Classe II de LIFECODES demonstrou 90,5% (89,9%) concordância para 150 amostras com antígenos correspondentes quando comparado com os resultados obtidos com o uso de LABScreen Antígeno Único HLA Classe II- Grupo 1, Catálogo nº LS2A01 (limite de confiança inferior 95% unilateral).

BIBLIOGRAFIA

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.

FABRICANTE E REPRESENTANTE AUTORIZADO

Fabricante: Immucor Transplant Diagnostics, Inc., 550 West Avenue, Stamford, CT 06902.EUA.
Telephone: 855.IMMUCOR ou 777.225.8790 (internacional), Fax: +1-203-328-9599

Representante Autorizado: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Alemanha
Telephone: +49 (0)6103 80560, Fax: +49 (0) 6103 8056199

Serviço Técnico Europeu: +32/3 385 47 91

Edição: Rev 1, 2017-01-24

