



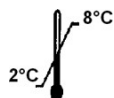
LIFECODES Assays Дополнительный буфер для промывки реагентов Для использования с

LIFECODES ID класса I (628200)
LIFECODES ID класса II v2
(628223)
LIFECODES LifeScreen Deluxe (628215)
LIFECODES C3d Detection (265400)
▲
▲
LIFECODES LSA Class I (265100)
LIFECODES LSA Class II (265200)

ССЫЛКА

▲
628211 Промывочный буфер UDI
(628211)

IVD для диагностики в
лабораторных условиях



Оглавление

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ.....	2
ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ РЕАГЕНТОВ	2
РЕАГЕНТЫ	3
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	3
ОСТОРОЖНО	3
ПРОЦЕДУРА, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ТОЛКОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕНИЯ, ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ	3

Код партии	Номер каталога	Ограничение температуры	Производитель	
LOT	REF			
Использовать до	Достаточно для N тестов	Разбавьте перед использованием	DIL Предупреждение	
Внимание – см. инструкции по использованию	Обратитесь к инструкции по использованию	Медицинское устройство для диагностики in vitro	Уполномоченный представитель в Европейском Сообществе	EC REP
			IVD	
Класс I	Класс II	Уникальное устройство	Импортёр	
CLI	CLII	Удостоверение личности		

LIFECODES Промывочный буфер — это дополнительный вспомогательный реагент, предназначенный исключительно для использования со следующими продуктами для использования в определенных этапах промывки и разбавления, характерные для продуктов качественного ручного анализа, приведенных ниже:

Идентификатор LIFECODES класса I

(628200) ЖИЗНЕННЫЕ КОДЫ Класс II

IDv2 (628223)

ЖИЗНЕННЫЕ КОДЫ LifeScreen Deluxe

(628215) LIFECODES C3d Detection

(265400) LIFECODES LSA Class I

(265100) LIFECODES LSA Class II

(265200)

LIFECODES Класс I и Класс II IDv2 представляют собой ручные качественные иммуноанализы на основе гранул, которые можно использовать для обнаружения присутствия антител IgG в сыворотке пациентов, сенсibilизированных к HLA в результате переливания крови, беременности или трансплантации. Специалисты лаборатории являются предполагаемыми пользователями устройства.

ЖИЗНЕННЫЕ КОДЫ LifeScreen Deluxe представляет собой ручной качественный иммуноанализ на основе гранул, используемый для обнаружения IgG-антитела к молекулам HLA класса I и класса II у пациентов, сенсibilизированных к HLA в результате переливания крови, беременности или трансплантации. Специалисты лаборатории являются предполагаемыми пользователями устройства.

LIFECODES Обнаружение C3d представляет собой ручной качественный анализ на основе гранул для обнаружения компонента, связанного с HLA-антигеном в комплексе с антителами, присутствующими в сыворотке пациентов, сенсibilизированных к HLA в результате переливания крови, беременности или трансплантации. Анализ предназначен для использования вместе с продуктами LIFECODES LSA Class I (P/N 265100) и LSA Class II (P/N 265200). Специалисты лаборатории являются предполагаемыми пользователями устройства.



ЖИЗНЕННЫЕ КОДЫ LSA Класс I представляет собой ручной качественный иммуноанализ, который можно использовать для обнаружения присутствия IgG-антител к человеческому лейкоцитарному антигену (HLA) класса I в сыворотке пациентов, сенсibilизированных к HLA в результате переливания крови, беременности или трансплантации. Специалисты лаборатории являются предполагаемыми пользователями устройства.

ЖИЗНЕННЫЕ КОДЫ LSA Класс II — ручной качественный иммуноанализ, который можно использовать для выявления присутствия IgG-антитела к человеческому лейкоцитарному антигену (HLA) класса II в сыворотке пациентов, сенсibilизированных к HLA в результате переливания крови, беременности или трансплантации. Специалисты лаборатории являются предполагаемыми пользователями устройства.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ ОПИСАНИЕ

Перечисленные выше реагенты, включенные в наборы, доступны для индивидуального заказа для использования с анализами Immucor LIFECODES. Флакон или флакон с реагентом содержит номер детали реагента, который используется в анализе, или альтернативный номер, который соответствует большей или меньшей упаковке реагента. ▲ Флакон или бутылка упакованы в пластиковую обертку, содержащую конкретную информацию об UDI, и имеют ссылку на номер детали реагента с включенным UDI.

Инструкции по использованию по назначению и дополнительную информацию см. в Инструкции по применению.

LIFECODES ID класса I (LC807IVDEN)

LIFECODES IDv2 класса II (LC807IVDEN)

LIFECODES LifeScreen Deluxe (LC1003IVDEN)

LIFECODES C3d Detection (LC1495CEEN)



LIFECODES LSA Class I (LC1683CEEN)

LIFECODES LSA Class II (LC1683CEEN)

Информацию о безопасности см. в Паспорте безопасности (SDS)

LIFECODES Assays Дополнительные реагенты-промывочный буфер

265100.AR (RU) РЕД В

Ключ: Подчеркивание = Добавление или существенное изменение; ▲ = Удаление текста

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

LIFECODES Class I ID (LC1604EN)
LIFECODES Class II IDv2 (LC1604EN)
LIFECODES LifeScreen Deluxe (LC1604EN)
LIFECODES C3d Detection (LC1602EN)



LIFECODES LSA Class I (LC983EN) LIFECODES
LSA Class II (LC983EN)

Инструкции по применению и паспорт безопасности доступны на веб-сайте Immucor.

РЕАГЕНТЫ

Ниже приведен список дополнительных реагентов, которые можно приобрести отдельно от анализов. Все реагенты следует хранить в соответствии с указаниями на этикетке.

ПРИМЕЧАНИЕ. Дополнительные реагенты доступны в ограниченном количестве. Рекомендуется заказывать дополнительные реагенты во время запроса анализов LIFECODES.

	Каталог #	Реагент	ССЫЛКА	Приложение для анализа
▲	▲	▲	▲	▲
LMWB	628211УДИ	Промывочный буфер (150 мл): Буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Готов к использованию. Хранить при температуре от 2 до 8°C и уравновесить до комнатной температуры (20 до 24°C) перед использованием.	628211	LIFECODES Анализы: 628200, 628223, 628215, 265100, 265200, 265400

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местным законодательством.
- Не используйте мутные компоненты или компоненты с истекшим сроком годности.
- Эти продукты предназначены для использования с прибором Luminex в соответствии с рекомендациями производителя.

ОСТОРОЖНОСТЬ

- Некоторые реагенты содержат 0,1% азид натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием взрывоопасных азидов металлов. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.

Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности.

ПРОЦЕДУРА, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ТОЛКОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕНИЯ, ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ

См. Инструкции по применению анализа (IFU) для получения информации о характеристиках анализа.



Immucor GTI Diagnostics,
Inc.20925 Crossroads Circle
Waukesha, WI 53186 USA



Иммукор Медицинский Диагност ГмбХ
Роберт-Бош-Штрассе 32
63303 Драйейх
Германия

США и международная контактная информация:

Техническая поддержка : waukeshatechsupport@immucor.com

www.immucor.com

© 2019-2022 Immucor GTI Diagnostics, Inc.

265100.AR (EN) ред. В
2022-04-27



Анализы LIFECODES HLA Antibody Detection Дополнительные реагенты Для использования с анализами LIFECODES Class I ID, LIFECODES Class II IDv2 и LIFECODES LifeScreen Deluxe.

ССЫЛКА

628201 Концентрат конъюгата UDI (628201)
628212 Концентрат конъюгата UDI (628212)

для диагностики в лабораторных условиях



Оглавление

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ.....	1
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ ОПИСАНИЕ РЕАГЕНТОВ	2
РЕАГЕНТЫ	2
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	3
ОСТОРОЖНО	3
ПРОЦЕДУРА, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ТОЛКОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕНИЯ, ХАРАКТЕРИСТИКИ	3

Код партии Число		Каталог		Ограничение температуры		Производитель	
Использовать По дате		Держать подальше от света		Достаточно для N тестов		Сертифицированное медицинское устройство диагностики in vitro	
Внимание – см. инст использованию		Обратитесь к инст использованию		Разбавьте перед использованием		Представитель в Европейском Сообществе	
Класс I		Класс II					

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Дополнительные реагенты могут быть доступны для использования с анализами LIFECODES HLA Antibody Detection. Реагенты должны использоваться в системе анализа. См. инструкции по применению LIFECODES Class I и Class II ID (LC807IVDEN) и LIFECODES LifeScreen Deluxe (LC1003IVDEN) по эксплуатации (IFU).

LIFECODES Class I и Class II IDv2 представляют собой иммуноанализы на основе шариков, используемые для качественного выявления панельных реактивных антител IgG HLA (PRA).

LIFECODES Class I ID: Скрининговый анализ Luminex® для качественного обнаружения панельных IgG-реактивных антител к молекулам HLA I класса.

LIFECODES Class II IDv2: скрининговый анализ Luminex® для качественного обнаружения панельных IgG-реактивных антител к молекулам HLA класса II.

LIFECODES LifeScreen Deluxe — это качественный иммуноанализ на основе шариков, используемый для обнаружения антител IgG к молекулам HLA класса I и класса II.

LIFECODES LifeScreen Deluxe (LMX) — это скрининговый анализ Luminex® для обнаружения антител IgG к молекулам HLA класса I и HLA класса II человеческого происхождения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ ОПИСАНИЕ

Перечисленные выше реагенты, которые включены в наборы, доступны для индивидуального заказа для использования с тестами Immucor HLA Antibody Detection. На флаконе или флаконе с реагентом указан номер детали реагента, который используется в анализе, или альтернативный номер, который является более крупной упаковкой реагента. Флакон или бутылка упакованы в пластиковую обертку, содержащую конкретную информацию об UDI, и упоминаются как номер детали реагента с включенным UDI.

См. Инструкции по применению (LC807IVDEN) для анализа LIFECODES Class I и Class II и (LC1003IVDEN) для анализа LIFECODES LifeScreen Deluxe для получения сведений о предполагаемом использовании, инструкций и дополнительной информации.

Информацию о безопасности см. в паспорте безопасности (SDS) (LC1604EN) для анализа LIFECODES Class I и Class II и анализа LIFECODES LifeScreen Deluxe.

Инструкции по применению (LC807IVDEN, LC1003IVDEN) и паспорт безопасности (LC1604EN) доступны на веб-сайте Immucor.

РЕАГЕНТЫ

Ниже приведен список дополнительных реагентов, которые можно приобрести независимо от анализов LIFECODES Class I и Class II и LIFECODES LifeScreen Deluxe.

Все реагенты следует хранить в соответствии с указаниями на этикетке.

ПРИМЕЧАНИЕ. Дополнительные реагенты для анализов LIFECODES Class I и Class II и LIFECODES LifeScreen Deluxe.

доступны в ограниченном количестве. Рекомендуется заказывать дополнительные реагенты одновременно с анализами LIFECODES Class I и Class II и LIFECODES LifeScreen Deluxe.

Каталог #	Реагент	ССЫЛ КА	Приложение для анализа
628201UDI	Конъюгат конъюгата (170 мкл)	628201	Анализы LIFECODES ID

Козий античеловеческий IgG, конъюгированный с фикоэритрином в буфере для хранения на фосфатной основе, содержащем NaCl, твин-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. DIL ДОЛЖЕН БЫТЬ РАЗБАВЛЕН 1:10 в промывочном буфере перед использованием.

СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Хранить вдали от прямого света в течение длительного периода времени.

Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.

класса I и класса II
Реагент для конкретной партии

628212UDI	Конъюгат конъюгата (550 мкл)	628212	Анализ LIFECODES LifeScreen Deluxe Реагент для конкретной партии
LMCJS	10-кратный запас козьего античеловеческого IgG, конъюгированного с фикоэритрином в буфере для хранения на фосфатной основе, содержащем NaCl, твин-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. DIL ДОЛЖЕН БЫТЬ РАЗБАВЛЕН 1 к 10 в промывочном буфере перед использованием. СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Сократите обычное пребывание на свету до 3 часов или меньше. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.		

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местным законодательством.
- Не используйте мутные компоненты или компоненты с истекшим сроком годности.
- Эти продукты предназначены для использования с прибором Luminex в соответствии с рекомендациями производителя.

ОСТОРОЖНОСТЬ

- Некоторые реагенты содержат 0,1% азид натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием взрывоопасных азидов металлов. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.
- Утилизируйте все неиспользованные конъюгаты после использования.

Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности.

ПРОЦЕДУРА, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ТОЛКОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕНИЯ, ВЫПОЛНЕНИЕ

См. Инструкции по применению (IFU) для анализа LIFECODES Class I и Class II (LC807IVDEN) и анализа LIFECODES LifeScreen Deluxe (LC1003IVDEN) для получения информации о производительности.



Immucor GTI Diagnostics,
Inc.20925 Crossroads Circle
Waukesha, WI 53186 USA

ЕС РЭП

Иммукор Медицинский Диагност ГмбХ
Роберт-Бош-Штрассе 32
63303 Драйейх
Германия

США и международная контактная информация:

Техническая поддержка : waukeshatechsupport@immucor.com

www.immucor.com

© 1997-2019 Immucor GTI Diagnostics, Inc.

628215AR (RU) Версия A
2020-05-12



Документация по продукту и переводы доступны по
адресу: www.immucor.com

ПАСПОРТ НА ПРОДУКЦИЮ

LIFECODES Класс I: Люминекс® Скрининговый анализ для качественного обнаружения панельных IgG-реактивных антител к молекулам HLA класса I.

LIFECODES Класс II IDv2: Люминекс® Скрининговый анализ для качественного обнаружения панельных IgG-реактивных антител к молекулам HLA класса II.

Для использования в

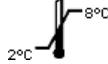
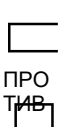
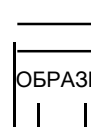
IVD

только Rx

ОГЛАВЛЕНИЕ

Определение символов.....	1	Процедура.....	3
Использование по назначению.....	2	Предоставленные материалы.....	3
Резюме и объяснение.....	2	Необходимые материалы, но не предоставленные.....	3
Принципы процедуры.....	2	Инструкция по применению.....	3
Реагенты.....	2	Полученные результаты.....	4
Удостоверение личности.....	2	Контроль качества.....	5
Предупреждения и предостережения.....	3	Ограничения процедуры.....	5
Инструкции по хранению.....	3	Исправление проблем.....	6
Очистка или обработка для использования.....	3	Конкретные рабочие характеристики.....	6
Признаки нестабильности.....	3	Использованная литература.....	6
Требования к прибору.....	3	Авторизованный представитель.....	6
Сбор и подготовка образцов.....	3		

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИМВОЛОВ (этикетки продуктов и дополнительные Документы)

Код партии	 Номер каталога	 Использовать до	 Диапазон температур (хранение)	
Разбавьте перед использованием	 Держитесь подальше от света	 Достаточно для N тестов	 Обратитесь к инструкции по использованию	
Имя пациента	 Идентификационный номер Я БИ#	 Дата	 Дата техник	
Гранула	 Этническая принадлежность	 Донор	 Дата кровотечения	
Поправочный коэффициент фона	 Средняя интенсивность флуоресценции	 Панельные реактивные антитела	 Интерпретация	
Отрицательный контрольный шарик	 Положительный контрольный шарик (иммуноглобулин G)	 Антиген	 Образец	
Класс I	 Класс II	 Строка	 Столбец	
Количество шариков, содержащих антиген	 Наблюдаемый Диапазоны	 Производитель		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

LIFECODES Class I и Class II IDv2 представляют собой иммуноанализы на основе шариков, используемые для качественного выявления панельных реактивных антител IgG HLA (PRA).

РЕЗЮМЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Человеческие лейкоцитарные антигены (HLA) представляют собой систему гликопротеинов, которые играют функциональную роль в презентации пептидов иммунной системе.^{1,2} Однако, будучи высокополиморфной системой, молекулы HLA могут стать мишенями гуморального ответа у людей во время беременности, переливание продуктов крови или отторжение трансплантата органа. Как правило, аллоиммунизация приводит к выработке HLA-антител примерно у 33% подвергшихся воздействию лиц.³ Наличие или отсутствие этих HLA-специфических антител играет роль в определении выживаемости аллотрансплантатов.⁴

LIFECODES Class I ID Beads предназначены для обнаружения антител IgG к гликопротеинам HLA класса I. LIFECODES Class I ID состоит из различных шариков Lumiplex, с которыми конъюгированы аффинно очищенные гликопротеины HLA класса I от разных людей.

LIFECODES Class II ID Beads предназначены для обнаружения антител IgG к гликопротеинам HLA класса II. LIFECODES Class II IDv2 состоит из различных шариков Lumiplex, с которыми конъюгированы аффинно очищенные гликопротеины HLA класса II от разных людей.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Аликвоту гранул инкубируют с небольшим объемом пробы тестируемой сыворотки. Затем сенсibilизированные шарики промывают для удаления несвязавшегося антитела. Затем добавляют антитело против человеческого IgG, конъюгированное с фикоэритрином. После очередной инкубации исследуемый образец разбавляют и анализируют на приборе Lumiplex. Интенсивность сигнала от каждой гранулы сравнивают с интенсивностью сигнала негативной контрольной гранулы, включенной в препарат гранулы, чтобы определить, является ли гранула положительной или отрицательной для связанного аллоантитела.

РЕАГЕНТЫ

А. Удостоверение личности

628200: LM LIFECODES Class I ID состоит из пяти (5) компонентов в количествах, достаточных для 24 тестов.

- 405565 LM1B HLA I Бусины** (120 мкл): Смесь гранул, каждая из которых конъюгирована с гликопротеинами HLA класса I от другого человека плюс четыре (4) контрольные бусины. Буфер для хранения представляет собой буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, ProClin 300 и бычий сывороточный альбумин. СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.
- 628201 LMCJ Конъюгат конъюгата** (170 мкл): Козий античеловеческий IgG, конъюгированный с фикоэритрином в хранилище на основе фосфатов буфер, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычью сыворотку. Альбумин. ДОЛЖЕН БЫТЬ РАЗБАВЛЕН 1:10 в промывочном буфере перед использованием. ЛЕГКИЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Хранить вдали от прямого света в течение длительного периода времени. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.
- 628221 LMWB Промывочный буфер** (30 мл): Буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Хранить при температуре от 2 до 8°C и довести до комнатной температуры (от 20 до 24°C) перед использованием.
- 628208 LMPK Сыворотка положительного контроля** (80 мкл): Эту сыворотку или смесь сывороток получают от индивидуума(ов), аллоиммунизированного(ых) к HLA-антигенам (>85% PRA). Хранить при температуре от 2 до 8°C.
- 628209 LPHK Сыворотка отрицательного контроля** (80 мкл): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), о котором известно, что у него нет антител к HLA-антигенам (<10% PRA). Хранить при температуре от 2 до 8°C.

628223: LM2Q LIFECODES Class II IDv2 состоит из пяти (5) компонентов в количествах, достаточных для проведения 24 тестов.

1. **405566 LM2B** Бусины HLA II (120 мкл): Смесь гранул, каждая из которых конъюгирована с гликопротеинами HLA класса II от другого человека плюс четыре (4) контрольные бусины. Буфер для хранения представляет собой буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.
2. **628201 LMCJ** Конъюгат конъюгата (170 мкл): Козий античеловеческий IgG, конъюгированный с фикоэритрином в хранилище на основе фосфатов буфер, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычью сыворотку альбумин. ДОЛЖЕН БЫТЬ РАЗБАВЛЕН 1 к 10 в промывочном буфере перед использовать. СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Хранить вдали от прямого света в течение длительного периода времени. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.
3. **628221 LMWB** Промывочный буфер (30 мл): Буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Хранить при температуре от 2 до 8°C и довести до комнатной температуры (от 20 до 24°C) перед использованием.
4. **403892 LMPK** Положительная контрольная сыворотка (80 мкл): Эту сыворотку или смесь сывороток получают от индивидуума(ов), аллоиммунизированного(ых) к HLA-антигенам (>85% PRA). Хранить при температуре от 2 до 8°C.
5. **403887 LMNJ** Отрицательная контрольная сыворотка (80 мкл): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), о котором известно, что у него нет антител к HLA-антигенам (<10% PRA). Хранить при температуре от 2 до 8°C.

В. Предупреждения или предостережения

1. Для использования в диагностике in vitro.
2. Исходный человеческий материал, использованный при производстве этого набора, был протестирован и признан отрицательным на антитела к ВИЧ, ВГС и HBsAg методами, одобренными FDA. Однако ни один метод тестирования не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов. Поэтому при работе с этими материалами используйте универсальные меры предосторожности.
3. Замена компонентов, отличных от предусмотренных в этой системе, может привести к ошибочным результатам.
4. Реагенты содержат 0,1% азид натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием взрывоопасных азидов металлов. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.
5. Бактериальное заражение образцов или присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулинов может вызвать повышенное неспецифическое связывание и ошибочные результаты.
6. Этот продукт обнаруживает антитела IgG, которые могут быть или не быть лимфоцитотоксическими.
7. Этот продукт не должен обнаруживать антитела класса IgA или IgM иммуноглобулина.
8. Результаты с несколькими положительными гранулами DQ, которые не имеют типов DQ бета, могут указывать на присутствие DQ альфа-специфического антитела. Изучите эти данные дальше.
9. DQ-специфические антитела, дающие положительные результаты на гранулах, конъюгированных с гомозиготным донором DQ, которые не подтверждаются положительным результатом на совместимом гетерозиготном доноре DQ, могут указывать на слабореактивное антитело. Изучите эти данные дальше.
10. Определение % PRA не является единственной основой для клинического решения, влияющего на лечение пациента. Окончательная перекрестная совместимость обычно проводится перед трансплантацией.
11. Эти продукты предназначены для использования с прибором Luminex в соответствии с рекомендациями производителя.
12. Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местным законодательством.
13. Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности материалов.

С. Инструкции по хранению

1. Указания по хранению см. на этикетках продуктов.
2. Бусины и конъюгат СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫ. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше.

Д. Очистка или обработка, необходимая для использования

1. См. «Сбор и подготовка образцов».
2. Перед использованием концентрат конъюгата необходимо развести 1:10 в промывочном буфере.

Е. Признаки нестабильности

1. Не используйте компоненты или элементы управления, которые мутные или с истекшим сроком годности.
2. Утилизируйте все неиспользованные разведенные положительные и отрицательные контроли и конъюгируйте после использования.

ТРЕБОВАНИЯ К ПРИБОРАМ

Luminex Instrument and XY Platform (номер продукта Lifecodes ▲, 888302) или Luminex FLEXMAP 3D (номер продукта 888303).

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Кровь следует собирать без антикоагулянта с использованием асептической техники, и ее следует анализировать еще свежей, чтобы свести к минимуму вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций из-за неправильного хранения или загрязнения образца. Сыворотку следует хранить при температуре от 2 до 8°C не более 48 часов. Если сыворотку необходимо хранить более 48 часов, ее следует заморозить при температуре -20°C или -80°C или ниже на срок до 2 лет. Отдельные лаборатории должны разработать и утвердить методы хранения сыворотки более 2 лет. Сыворотка должна быть отделена от эритроцитов при хранении или транспортировке. Избегайте многократного замораживания и оттаивания образцов сыворотки.

Не используйте микробиологически загрязненные, гемолизированные, липемические или инактивированные нагреванием сыворотки, так как эти образцы могут давать противоречивые результаты.

Перед анализом все образцы следует встряхнуть и центрифугировать в течение короткого времени (30 секунд при 10 000 g) для осаждения любых твердых частиц, которые могут присутствовать.

Ключ: Подчеркивание = Добавление или существенное изменение;
▲ = Удаление текста

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОЦЕДУРА

А. Предоставленные материалы (Более подробную информацию см. в разделе РЕАГЕНТЫ.)

- Бусины HLA
- конъюгат концентрата
- Промывочный буфер
- Положительная контрольная сыворотка
- Сыворотка отрицательного контроля
- Лист записи
- Лист формата пластины

В. Материалы, реагенты и оборудование, необходимые, но не предоставляемые (как указано или эквивалентно)

- Регулируемые пипетки на 5 мкл – 50 мкл с соответствующими наконечниками для пипеток
- Многоканальная пипетка на 250 мкл с подходящими наконечниками и буферной емкостью
- 1,5 мл микроцентрифужные пробирки для разведения конъюгатов
- Пробирки для образцов пациентов и контрольных образцов
- Таймер
- Маркировочная ручка
- Клейкие пластиковые крышки
- Luminex Sheath Fluid (1x или 20x, Lifecodes, кат. № 628005 или Luminex, кат. № 40-50018) или Luminex Sheath Fluid Plus (Lifecodes, кат. № 628010))
- Калибровочные комплекты Luminex (Калибровочный комплект Luminex 100/200, Комплект для проверки производительности Luminex 100/200, Lifecodes Cat No. 628018 и 628019 соответственно) или FLEXMAP 3D
- Калибровочные комплекты (калибровочные комплекты Luminex FLEXMAP 3D, Luminex FLEXMAP 3D Performance Verification Kit, LIFECODES Cat No. 888307 и 888308 соответственно)
- Дистиллированная вода
- Ротатор или вортекс с пластинчатым адаптером
- Фильтровальные пластины Millipore Multiscreen (Millipore Cat No. MSBVN1210, Lifecodes Cat No. 888633)
- Многоэкранный вакуумный коллектор (Millipore Cat No. MAVM 0960R, Qiagen Cat No. 19504, Lifecodes Cat No. 888315)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:

- НЕОБХОДИМО соблюдать осторожность, чтобы избежать загрязнения промывочного буфера и реагента против человеческого IgG. Непреднамеренное заражение этих реагентов человеческой сывороткой приведет к нейтрализации анти-человеческого IgG и, как следствие, к неудаче теста.
- Необходимо соблюдать осторожность, чтобы контролировать силу вакуума. Сильное вакуумное давление может привести к прилипанию шариков к мембране, что приведет к сбою подсчета шариков.
- Необходимо соблюдать осторожность при пипетировании в фильтровальный планшет, чтобы шарики не прилипали к стенкам лунок микропланшета. Бусины следует пипетировать в раствор, уже присутствующий в лунке, при этом будьте осторожны, чтобы не коснуться мембраны наконечником. Контакт мембраны с наконечником пипетки может привести к проколу мембраны и последующему отказу анализа.

- Необходимо следить за тем, чтобы во время инкубации шарики не разбрызгивались и не прилипали к стенкам лунок. При запуске анализа в первый раз запустите несколько положительных и/или отрицательных контролей, чтобы определить оптимальную скорость для вращающейся платформы или вихревого миксера. Для некоторых инструментов было показано, что скорость около 200 оборотов в минуту эффективна.
- Наличие значительных уровней несвязанных антител по завершении этапа промывки из-за избытка сыворотки или плохого промывания может снизить способность анализа обнаруживать IgG, связанный с сенсibilизированными шариками, и вызвать ошибочные результаты.
- Образец сыворотки положительного и отрицательного контроля должен быть включен в каждый тест, чтобы помочь определить, произошла ли техническая ошибка или некачественный реагент.

1. Оставьте другие компоненты в темноте при температуре от 2 до 8°C до тех пор, пока они не потребуются, доведите промывочный буфер до комнатной температуры (от 20 до 24°C) перед использованием. В это время используйте лист формата планшета, чтобы назначить положение на планшете для каждой сыворотки и контролей, подлежащих анализу. Контрольные сыворотки, поставляемые в наборе, используются для иллюстрации широко реактивной положительной аллосыворотки и отрицательной сыворотки.
2. Накройте неназначенные лунки фильтрующей пластины клейкой пластиковой крышкой. Затем предварительно смочите лунки 100-300 мкл дистиллированной воды. Через 2-5 минут удалите воду осторожной аспирацией с помощью вакуумного коллектора. (См. рекомендации производителя по правильному использованию.)
3. Кратковременно (30 секунд) подготовьте шарики HLA, центрифугируя флакон при 600–800 g, чтобы удалить любые шарики или жидкость с крышки или стенок флакона. Тщательно вортекс (~ 1 минута), чтобы равномерно ресуспендировать бисер.
4. Добавьте 40 мкл промывочного буфера в каждую тестовую лунку фильтрующей пластины, затем 12,5 мкл сыворотки пациента или контрольной сыворотки и перемешайте.
5. Добавьте 5 мкл шариков HLA в каждую из назначенных лунок. Встряхивайте флакон с шариками HLA каждые 2 минуты, чтобы шарики оставались во взвешенном состоянии при распределении шариков.

ВНИМАНИЕ: это важно держать шарики ресуспендированными, чтобы обеспечить достаточное количество шариков в аликвотах и обеспечить малое время подсчета. Отсутствие периодического встряхивания шариков приведет к тому, что шарики осядут на дно пробирки. Это приведет к тому, что в лунки будет распределяться различное количество шариков, что

6. Накройте пластину клейкой пластиковой крышкой, затем фольгой или коробкой для защиты от света. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (от 20 до 24°C) в темноте на вращающейся платформе (200 оборотов в минуту). Верните неиспользованные порции контрольной сыворотки и шариков на хранение при температуре от 2 до 8°C в темноте для использования в будущем.
7. Разбавьте конъюгат промывочным буфером и храните в темноте (5 мкл конъюгата на 45 мкл промывочного буфера на образец). Чтобы компенсировать потери при пипетировании, желателен восполнить один (1) дополнительный объем разбавленного конъюгата. Накройте фольгой и/или храните в темноте при комнатной температуре до использования. Верните неиспользованную часть концентрата конъюгата на хранение при температуре от 2 до 8°C в темноте для использования в будущем.
8. После 30-минутной инкубации снимите клейкую пластиковую крышку и добавьте в каждую лунку по 100 мкл промывочного буфера. Перемешать, постукивая по стенке планшета, и осторожно аспирировать планшет.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Использование чрезмерной силы вакуума приведет к прилипанию шариков к мембране, что может привести к повреждению образца. Примените минимальное вакуумметрическое давление, необходимое для аспирации.

9. Добавьте 250 мкл промывочного буфера в каждую лунку, аспирируйте и повторите еще два раза, всего три промывки.

ВНИМАНИЕ: сбой полная промывка может снизить способность конъюгата обнаруживать IgG, связанный с сенсibilизированными шариками, и вызвать ложноотрицательные результаты.

10. Добавьте в каждую лунку по 50 мкл разбавленного конъюгата. Накройте тарелку фольгой или коробкой для защиты от света. Поместите на вращающуюся платформу (со скоростью 200 оборотов в минуту) или осторожно встряхивайте каждые 5-10 минут. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (от 20 до 24°C).
11. Используя чистый наконечник пипетки, добавьте 130–150 мкл промывочного буфера в каждую лунку и перемешайте, чтобы ресуспендировать гранулы.
12. Собирайте данные с помощью Luminex Instrument, используя рекомендации производителя. Задержки более чем на 3 часа могут увеличить вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций. Верните неиспользованную часть промывочного буфера на хранение при температуре от 2 до 8°C для использования в будущем.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Чтобы определить, является ли шарик положительным, сначала разделите медианный MFI отдельного шарика на MFI для каждого шарика отрицательного контроля (CON1, CON2, CON3). Из этих частных вычитите поправочный коэффициент фона (BAF) для соответствующей комбинации шарик/CON. BAF представляет собой заранее определенное отношение MFI для каждой комбинации гранул/CON для компенсации фонового шума из-за изменения гранул и может быть найдено в листе регистрации для конкретной партии, прилагаемом к набору.

Пример:	_____ Индивидуальный ШарикМФО	- (BAF) = Скорректированное
	_____ Отрицательный контрольный шарик 1 (CON1) MFI	соотношение 1
	_____ Индивидуальный ШарикМФО	- (BAF) = Скорректированное
	_____ Отрицательный контрольный шарик 2 (CON2) MFI	соотношение 2
	_____ Индивидуальный ШарикМФО	- (BAF) = Скорректированное
	_____ Отрицательный контрольный шарик 3 (CON3) MFI	соотношение 3

В наборах для идентификации класса I и класса IIv2 также используется четвертый расчет отрицательного контроля, «CalcCON», основанный на характеристиках нереагирующих антигенсодержащих гранул. CalcCON определяется следующим образом: $\text{CalcCON} = \text{MFI гранула антигена с самым низким рангом} + 20$. Таким образом, четвертый расчет:

$$\frac{\text{Индивидуальная бусина MFI} - (\text{BAF})}{\text{скорректированное соотношение 4CalcCON}}$$

- Положительное значение для двух или более из четырех расчетов указывает на положительную реакцию гранул.
- Отрицательное значение для трех или более из четырех расчетов указывает на отрицательную реакцию гранул.

Процент PRA (панельно-реактивных антител) для наборов ID рассчитывается по следующей формуле:

Идентификатор класса I

$$\% \text{ PRA} = \frac{\text{Количество положительных шарикреакции}}{\text{Количество гранул в анализе (не включая контрольные шарики)}} \times 100$$

IDv2 класса II

$$\% \text{PRA} = \frac{(\text{Количество положительно реагирующих гранул, обогащенных DR}) + (\text{Количество отрицательно реагирующих гранул, обогащенных DR, которые также содержат положительный антиген DQ})}{\text{Общее количество DR-обогащенных шариков}} \times 100$$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества ID класса I и IDv2 класса II встроен в тест-систему путем включения положительных и отрицательных контрольных сывороток. Эти элементы управления должны быть включены в каждый запуск теста, чтобы помочь определить, произошли ли технические ошибки или сбой реагентов. Для наборов для идентификации сыворотка положительного контроля будет реагировать с большей частью или со всеми гранулами, конъюгированными с HLA (> 85%), с пиковой конъюгированной с HLA гранулой, обеспечивающей минимальную медианную интенсивность флуоресценции $\geq 10\,000$. Отрицательная контрольная сыворотка будет отрицательной (<10%).

Наборы шариков включают четыре контрольных шарика для контроля производительности каждого образца. Гранулы положительного контроля покрыты человеческим IgG и должны давать значения $\text{MFI} > 10\,000$ с контрольной сывороткой. Если с контрольной сывороткой вы получаете значения менее 10 000 MFI, возможно, ваш анализ недостаточно промыт или ваш конъюгат может быть скомпрометирован. Образцы пациентов демонстрируют широкий диапазон реактивности с положительной контрольной гранулой, но должны давать сигнал > 3500 MFI. Точно так же шарики отрицательного контроля должны показывать низкие значения MFI. Обратитесь к регистрационному листу для конкретной партии, чтобы узнать наблюдаемые диапазоны для гранул отрицательного контроля. Данные за пределами диапазона следует тщательно изучить. В отсутствие сыворотки положительный контроль будет давать сильный сигнал, в то время как остальные шарики будут иметь в среднем приблизительно 50 MFI или меньше. Если образец дает такие очень низкие значения, возможно, образец был случайно пропущен. Эти образцы должны быть повторены.

Анализ следует проводить в соответствии с рекомендациями, указанными на листке-вкладыше, а также с любыми другими процедурами контроля качества, соответствующими местным, государственным, федеральным требованиям и/или требованиям органов по аккредитации.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Ошибочные результаты могут быть вызваны бактериальным загрязнением тестируемых материалов, неадекватным периодом инкубации, неадекватной промывкой или декантацией гранул, воздействием рассеянного света на конъюгат или пропуском тестовых реагентов или этапов.

Присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулинов в образце пациента может вызвать повышенное неспецифическое связывание и привести к ошибочным результатам этого анализа.

Для наборов для идентификации обнаруживаются антитела, реактивные в популяции доступных антигенов, перечисленных в Листе регистрации. Некоторая низкая avidность, некоторый низкий титр, IgA, IgM и антитела к редким аллелям не будут обнаружены с помощью анализов LIFECODES ID.

Гранулы фенотипа класса II, которые указывают на присутствие антигенов DR и/или DQ, обогащены DR, поэтому эти гранулы могут проявлять повышенную чувствительность к антителам DR. Напротив, специфические гранулы DQ класса II обогащены DQ и проявляют повышенную чувствительность к антителам DQ. Эксперименты, проведенные до настоящего времени, не смогли обнаружить присутствие DR на гранулах, обогащенных DQ, что улучшило специфичность антител DQ. Плотность антигена для DR и DQ на двух конструкциях шариков (обогащенный DR и обогащенный DQ) может объяснить характер реактивности шариков при анализе сыворотки.

Добавление гранул DQ класса II к анализу IDv2 класса II поможет определить наличие антител DQ в сыворотке с высоким содержанием PRA.

Из-за сложного характера тестирования HLA квалифицированный персонал должен проверять интерпретацию данных. При определении специфичности антител с использованием наборов LIFECODES ID должны учитываться результаты всех гранул, в том числе тех, которые могут быть равны или близки к пороговому значению.

Знание анамнеза пациента, а также понимание перекрестно-реактивных групп могут быть полезны при назначении специфичности конкретной сыворотке.

ИСПРАВЛЕНИЕ ПРОБЛЕМ

ПРОБЛЕМА	ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА	РЕШЕНИЕ
	Бисерная смесь плохо взвешена	Импульсный вихрь для полного ресуспендирования

Низкое количество шариков	Сбои прибора - вне калибровки	См. руководство по прибору
	Отказы прибора - поток пробы заблокирован	См. руководство по прибору
	Фотоотбеленные бусины	Использовать новый комплект
	Вакуумное давление слишком сильное/гранулы прилипли к мембране	Уменьшить силу вакуума
Контрольный порог превышен	Плохая стирка	Повторяйте и контролируйте стирки
	Плохое качество образца	Перерисовать
Недостаток порога положительного контроля	Фотообесцвеченный конъюгат	Использовать новый комплект
	Плохая стирка	Повторяйте и контролируйте стирки

ОСОБЫЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когда наборы LIFECODES ID используются в соответствии с описанной процедурой, результаты показывают наличие или отсутствие антител HLA IgG. Используя 10% отсечку PRA, набор ID класса I показал 97,1% ко-позитивности (90,2-99,2%), 86,4% ко-негативности (75,5-93,0%) и совпадения 92,2% (86,3-95,7%) для 129 образцов, оцененных по сравнению с результатами, полученными с использованием методов проточной цитометрии (доверительные интервалы 95%). Набор Class II IDv2 показал 99,7% ко-позитивности (98,3-99,9%), 72,2% ко-негативности (66,6-77,1%) и совпадения 87,2% (84,3-89,6%) для 600 образцов, оцененных по сравнению с результатами, полученными с помощью LIFECODES. удостоверение личности II класса; значения ко-негативности и согласованности отражают усиленное обнаружение DQ-реактивных антител с классом II IDv2.

В ходе лабораторных испытаний были оценены следующие реагенты, которые не мешали работе LIFECODES LifeScreen Deluxe: Remicade (Centocor), Rituxin (Genentech), Zenarax (Roche), Campath (Genzyme) и Gammaguard (Baxter). Напротив, было показано, что тимоглобулин (Genzyme) вызывает ложноположительные результаты. Образцы, содержащие тимоглобулин, могут давать неверные результаты.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Кляйн Дж., Сато А. Система HLA. Н. англ. Дж. Мед. 2000 г.; 343:702 и 343:782.
2. Парэм, П. Иммунная система. Издательство Garland Publishing, Нью-Йорк и Лондон. 2000 г.; 55.
3. Роди, GE. HLA Beyond Tears (2-е издание). DeNovo, Inc. Дуранго, Колорадо, 2000; 163.
4. Маккенна, RM; Такемото, Словакия; Тераки, ИП. Антитела к HLA после трансплантации паренхиматозных органов. Трансплантация 2000; 69:319.

АВТОРИЗОВАННЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ

Авторизованный представитель: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Германия Тел.: +49 (0) 6103 80560, Факс: +49 (0) 6103 8056199



Контактная информация службы технической поддержки:

НАС: Lifecodestechsupport@immucor.com

Международный: Tech.support.int.transplant@immucor.com

Изданный: 2021-07-22



Immucor GTI Diagnostics, Inc.
20925 Перекресток Серкл, Уокеша, штат Висконсин 53186 США

Тел: (855) 466-8267

[WWW.IMMUCOR.COM](http://www.immucor.com)

Документация по продукции и переводы доступны по адресу: <http://www.immucor.com>

ПАСПОРТ НА ПРОДУКЦИЮ

LIFECODES LifeScreen Deluxe (LMX) - это скрининговый анализ Lumiplex® для обнаружения антител IgG к молекулам HLA класса I и HLA класса II человеческого происхождения.

Для использования в лабораторных условиях **IVD**

Rx ONLY

СОДЕРЖАНИЕ

Определение символов.....	1	Процедура.....	3
Использование по назначению.....	2	А.Предоставление материалов.....	3
Краткое содержание и пояснение.....	2	В.Материалы, реагенты и оборудование.....	3
Принципы процедуры.....	2	Инструкция по применению.....	3
Реагенты.....	2	Контроль качества.....	4
А. Определение.....	2	Результаты.....	5
В.Предупреждения или предостережения....	2	Ограничения по процедуре.....	5
С. Инструкции по хранению.....	2	Диагностика.....	5
Д.Лечение по назначению	3	Специфические эксплуатационные хакактики....	6
Е.Показатели нестабильности.....	3	Использованная литература.....	6
Требования к оборудованию	3		
Сбор и подготовка образцов.....	3		

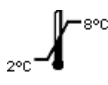
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИМВОЛОВ

(Товарные знаки и дополнительные документы))

Код партии **LOT**

Номер каталога **REF**

Использовать до
даты 

Диапазон температур
(хранение) 

Разбавить перед
использованием **DIL**

Хранить вдали от
света 

Достаточно для N
испытаний 

Ознакомьтесь с
инструкцией по
применению 

ФИО пациента **NAME**

Идентификационный
номер **ID#**

Дата **DATE**

Технический
специалист **TECH**

Гранула **BEAD**

Этничность **ETHN**

Донор **DONOR**

Коэффициент
фоновой
корректировки **BAF**

Средняя
интенсивность
флуоресценции **MFI**

Оценка (см. раздел
"Результаты") **SCORE**

Разъяснение **INTRP**

Отрицательный
контрольный
гранула **CON**

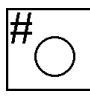
Положительный
контрольный гранула
(иммуноглобулины G) **IgG**

Класс I **CLI**

Класс II **CLII**

Образец **SAMPLE**

Дата кровотечения **BDT**

Количество
гранул
обладающих
антигеном 

Производитель 

Уполномоченный
представитель в
Европейском
сообществе **EC REP**

Наблюдаемые
диапазоны **Observed
Ranges**

Управление **Controls**

Биологические
риски 

Внимание,
ознакомьтесь с
сопроводительными
документами 

Ключ: подчеркивание = добавление или существенное изменение;

▲ = Удаление текста

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПО НАЗНАЧЕНИЮ

LIFECODES LifeScreen Deluxe - это качественный иммуноанализ на основе гранул, используемый для выявления IgG-антител к молекулам HLA класса I и класса II.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ И ПОЯСНЕНИЕ

Антигены лейкоцитов человека (HLA) представляют собой систему гликопротеинов, которые играют функциональную роль в презентации пептидов иммунной системе.^{1,2} Однако, будучи высокополиморфной системой, молекулы HLA могут стать мишенью для реакции антител у людей во время беременности, переливания продуктов крови или отторжения трансплантата органа. Как правило, аллоиммунизация приводит к выработке HLA-антител примерно у 33% людей.³ Наличие или отсутствие этих HLA-специфических антител играет важную роль в определении выживаемости аллотрансплантатов.⁴

Бусины LIFECODES LifeScreen Deluxe предназначены для выявления антител IgG к антигенам HLA класса I и класса II. LifeScreen Deluxe состоит из уникальных бусин Lumineх, к которым конъюгированы аффинно очищенные гликопротеины HLA класса I и HLA класса II.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Аликвоту гранул инкубируют с небольшим объемом образца сыворотки. Затем сенсibilизированные гранулы промываются для удаления несвязанного антитела. Затем добавляется античеловеческое антитело IgG, конъюгированное с фикоэритрином. После инкубации образец разбавляют и анализируют на приборе Lumineх. Интенсивность сигнала от каждой бусинки сравнивается с интенсивностью сигнала отрицательного контроля чтобы определить, является ли гранулоположительной или отрицательной в отношении связанного аллоантитела.

РЕАГЕНТЫ

А. Определение

628215: **LMX LIFECODES LifeScreen Deluxe** состоит из пяти (5) компонентов.

Следующие продукты предоставляются в количестве, достаточном для проведения 96 тестов:

1. **405567 LMXB LifeScreen Deluxe Гранул** (480 µL): Смесь гранул, совмещенная с гликопротеинами класса I HLA или класса II HLA гликопротеинов плюс четыре (4) контрольных шаров. Буфер хранения - это буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, ProClin300 и белок сыворотки говядины. **СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ**. Сохраняйте регулярное воздействие света до 3 часов или меньше. Готов к использованию. Храните на 2 до 8 °C в темноте.
2. **628212 LMCJS Конъюгатный концентрат** (550 µL): 10-кратный запас козьего античеловеческого IgG, конъюгированного с фикоэритрином, в фосфатном буфере для хранения, содержащем NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Перед использованием DIL ДОЛЖЕН быть разбавлен 1 к 10 в буфере для промывки. **ЧУВСТВИТЕЛЕН К СВЕТУ**. Не допускайте регулярного воздействия света в течение 3 часов или менее. Хранить при температуре от 2 до 8 °C в темноте.
3. **628211 LMWB Буфер для промывания** (150 mL): Буфер на основе фосфата, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Готов к использованию. Хранить при температуре от 2 до 8 °C и перед использованием уравновесить до комнатной температуры (от 20 до 24 °C).

Следующее предоставляется в количестве, достаточном для шести (6) запусков:

4. **628213 LMPC Положительная контрольная сыворотка** (80 µL): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), у которого(ых) выявлен аллоиммунитет к антигенам HLA. Содержит азид натрия. Готов к использованию. Хранить при температуре от 2 до 8 °C.
5. **628214 LMNC Отрицательная контрольная сыворотка** (80 µL): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), у которого(ых), как известно, нет антител к антигенам HLA. Содержит азид натрия. Готов к использованию. Хранить при температуре от 2 до 8 °C.

1) Предупреждения или предостережения

- a) Для использования в лабораторных условиях
- b) Исходный материал человека, использованный при производстве этого набора, был протестирован и показал отрицательный результат на антитела к ВИЧ, ВГС и HBsAg с помощью методов, одобренных FDA. Однако ни один метод тестирования не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов. Поэтому при работе с этими материалами соблюдайте универсальные меры предосторожности.
- c) Замена других компонентов, помимо тех, которые предусмотрены в этой системе, может привести к ошибочным результатам.
- d) Некоторые реактивы содержат 0,1% азида натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцом и медным водопроводом с образованием взрывчатого металла азида. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.
- e) Бактериальное заражение образцов или наличие иммунных комплексов или других иммуноглобулиновых агрегатов может привести к увеличению неспецифических связывающих и ошибочных результатов.
- f) Этот продукт определяет антитела IgG, которые могут быть или не быть лимфоцитотоксичными.
- g) Этот продукт не должен обнаружить антитела класса IgA или IgM иммуноглобулина.
- h) Эти продукты предназначены для использования с прибором Lumineх в соответствии с рекомендациями производителя.
- i) Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с правилами.
- j) Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности материалов.

2) Инструкции по хранению

- a) Указания по хранению см. на этикетках продуктов.
- b) гранулы LifeScreen Deluxe Beads и концентрат конъюгата ЧУВСТВИТЕЛЬНЫ К СВЕТУ. Сократите обычное пребывание на свету до 3 часов или меньше.

Key: Ключ: подчеркивание = добавление или существенное изменение

▲ = Удаление
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

D. Лечение, необходимое для использования

1. **LMCJS Конъюгатный концентрат:** DIL Перед использованием НЕОБХОДИМО РАЗБАВИТЬ 1 часть на 9 частей промывочного буфера. Подготовьте разбавленный конъюгат, добавив 5 мкл LMCJS к 45 мкл промывочного буфера для каждой тестируемой лунки. Накройте фольгой и/или храните в темном месте при комнатной температуре (от 20 до 24°C) до использования. Верните неиспользованную часть LMCJS на хранение при температуре от 2 до 8 °C в темноте для использования в будущем.
2. **LMWB Промывочный буфер:** Перед использованием доведите до комнатной температуры (от 20 до 24°C).

E. Показатели нестабильности

1. Не используйте компоненты или средства контроля, которые помутнели или срок годности которых истек.
2. Утилизируйте все неиспользованные разведенные положительные и отрицательные контроли и конъюгаты после использования.

ТРЕБОВАНИЯ К ОБОРУДОВАНИЮ

Luminex Instrument (номер продукта Lifecodes 888300/888302) или Luminex FLEXMAP 3D® (номер продукта LIFECODES 888303).

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Кровь следует собирать без антикоагулянта, используя асептическую технику, и ее следует тестировать еще свежей, чтобы свести к минимуму вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций из-за неправильного хранения или загрязнения образца. Сыворотку следует хранить при температуре от 2 до 8°C в течение не более 48 часов. Если сыворотка должна храниться более 48 часов, ее следует заморозить при температуре не ниже -20°C или -80°C на срок до 2 лет. Отдельные лаборатории должны разработать и валидировать методы хранения сывороток более 2 лет. При хранении или транспортировке сыворотка должна быть отделена от эритроцитов. Избегайте повторного замораживания и оттаивания образцов сыворотки.

Не используйте микробиологически загрязненные, гемолизированные, липемические или термически инактивированные сыворотки, поскольку эти образцы могут дать противоречивые результаты.

Перед анализом все образцы следует кратковременно перемешать (30 секунд) и центрифугировать (4-5 минут при 8000 – 12000 gcf), чтобы удалить любые присутствующие твердые частицы.

ПРОЦЕДУРА

A. Предоставление материалов (Более подробную информацию см. в разделе РЕАГЕНТЫ на стр. 2.)

- гранулы HLA
- Конъюгированный концентрат
- Промывочный буфер
- Сыворотка положительного контроля
- Сыворотка с отрицательным контролем
- Лист для записей
- Лист формата пластины

B. Материалы, реагенты и оборудование требуются, но не предоставляются (как указано в списке или эквивалент)

- 5 µL – 50 µL регулируемые пипетки с соответствующими наконечниками
- Многоканальная пипетка на 250 мкл с подходящими наконечниками
- и буферной емкостью
- 1.5 - 2.0 мл микроцентрифужные трубки
- Пробирки для пациентов и контрольных образцов
- Таймер
- Маркировочная ручка
- Дистиллированная вода
- Вращатель или вихрь с пластинчатым адаптером
- Многоэкранные фильтровальные пластины Millipore (Кат # MSBVN 1210, Lifecodes Cat # 888633)
- Герметики для клейких пластин (Lifecodes Cat # 888631)
- Многоэкранный вакуумный коллектор (Millipore Cat # MAVM 0960R или Qiagen Cat #19504, Lifecodes Cat # 888315)
- Жидкость для оболочки Luminex (1x или 20x Жизненные коды Cat # 628005 или Luminex Cat # 40-50018) или Luminex Fluid Plus (Lifecodes Cat # 628010)
- Калибровочные наборы Luminex (калибровочный набор Luminex 100/200, набор для проверки производительности Luminex 100/200, Lifecodes Cat # 628018 и 628019 соответственно) или калибровочные наборы FLEXMAP 3D (калибровочный набор Luminex FLEXMAP 3D, набор для проверки производительности Luminex FLEXMAP 3D, Lifecodes Cat # 888307 и 888308 соответственно)
- Микроцентрифуга

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:

- Необходимо соблюдать осторожность, чтобы избежать загрязнения промывочного буфера и концентрата конъюгата (анти-человеческий IgG). Случайное загрязнение этих реагентов человеческой сывороткой приведет к нейтрализации античеловеческого IgG и, как следствие, к неудаче теста.
- Необходимо соблюдать осторожность, чтобы контролировать силу вакуума. Сильное вакуумное давление может привести к прилипанию гранул к мембране, что приведет к сбою подсчета гранул.
- Во время пипетирования в фильтровальную пластину необходимо соблюдать осторожность. Будьте осторожны, не прикасайтесь к мембране кончиком пипетки. Контакт мембраны с наконечником пипетки может привести к проколу мембраны и последующему сбою анализа.
- Во время инкубации необходимо следить за тем, чтобы гранулы не разбрызгивались и не прилипали к стенкам лунок. При первом проведении анализа выполните несколько положительных и / или отрицательных регулировок, чтобы определить оптимальную скорость для вращающейся платформы или вихревого смесителя. Было показано, что скорость примерно 200 оборотов в минуту эффективна для некоторых инструментов.
- Наличие значительного количества несвязанного антитела, вызванного избытком сыворотки или плохой промывкой, может снизить способность анализа определять IgG, связанный с сенсibilизированными гранулами, и привести к ошибочным результатам.
- К каждому тесту следует прилагать образец положительной и отрицательной контрольной сыворотки, чтобы определить, не произошла ли техническая ошибка или неисправность реагентов. Не смешивайте компоненты из разных партий.

Ключ: подчеркивание = добавление или существенное изменение;

▲ = Удаление текста
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Процедура тестирования:

1. Оставив другие компоненты при температуре от 2 до 8°C в темноте до тех пор, пока это не потребуется, перед использованием доведите промывочный буфер до комнатной температуры (от 20 до 24°C). В течение этого времени используйте Таблицу формата планшета, чтобы назначить положение на планшете для каждой из анализируемых сывороток и контрольных образцов. Контрольные сыворотки, поставляемые в наборе, используются для иллюстрации широкореактивной положительной аллосерумы и отрицательной сыворотки.
2. Закройте неназначенные лунки фильтровальной пластины клейкой пластиковой крышкой. Затем предварительно смочите используемые лунки 100-300 мкл дистиллированной воды. Через 2-5 минут удалите воду осторожной аспирацией с помощью вакуумного коллектора. (См. рекомендации производителя для правильного использования).
3. Подготовьте гранулы HLA, коротко (30 секунд) центрифугируя флакон при 600-800 x g, чтобы удалить гранулы или жидкость с крышки или стенок флакона. Тщательно перемешайте вихрем (~1 минута), чтобы равномерно ресуспендировать гранулы.
4. Добавьте 40 мкл промывочного буфера в каждую лунку фильтровальной пластины, затем 12,5 мкл сыворотки пациента или контрольной сыворотки и перемешайте.
5. Добавьте 5 мкл HLA-гранул в каждую лунку. Переворачивайте флакон с бусинами HLA каждые 2 минуты, чтобы сохранить гранулы во взвешенном состоянии при распределении шаров.

ВНИМАНИЕ: Важно сохранять гранулы ресуспендированными, чтобы обеспечить аликвотацию достаточного количества гранул в лунки и обеспечить низкое время подсчета. Неспособность периодически завихрять гранулы приведет к тому, что гранулы осядут на дно трубки. Это приведет к тому, что в лунки будет подаваться разное количество гранул, что может отрицательно сказаться на времени выполнения

- и анализе результатов.
6. Накройте пластину клейкой пластиковой крышкой, затем фольгой или коробкой для защиты от света. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20-24°C) в темноте на вращающейся платформе (200 оборотов в минуту). Верните неиспользованные порции контрольных сывороток и бисера на хранение при температуре 2-8°C в темноте для дальнейшего использования.
7. Разбавьте конъюгат промывочным буфером и храните в темноте (5 мкл конъюгата на 45 мкл промывочного буфера на образец). Чтобы учесть потери при пипетировании, желателен состав один (1) дополнительный объем разбавленного конъюгата. Накройте фольгой и/или храните в темноте при комнатной температуре до использования. Верните неиспользованную часть концентрата конъюгата на хранение при температуре от 2 до 8°C в темноте для дальнейшего использования.
8. После 30-минутной инкубации снимите клейкую пластиковую крышку и добавьте 100 мкл промывочного буфера в каждую лунку. Перемешайте, постукивая по краю планшета, и осторожно аспирируйте планшет.

ВНИМАНИЕ: Использование чрезмерной силы вакуума приведет к прилипанию гранул к мембране и может привести к разрушению образца. Применяйте минимальное вакуумное давление, необходимое для аспирации образцов.

9. Добавьте 250 мкл промывочного буфера в каждую лунку, аспирируйте и повторите еще два раза, в общей сложности три промывки.

ВНИМАНИЕ: Неспособность промыть полностью может снизить способность конъюгата обнаруживать IgG, связанный с сенсibilизированными гранулами, и вызвать ложноотрицательные результаты.

10. Добавьте 50 мкл разбавленного конъюгата в каждую лунку. Накройте планшет фольгой или коробкой для защиты от света. Поместите на вращающуюся платформу (установленную на 200 оборотов в минуту) или осторожно перемешивайте вихрем каждые 5-10 минут. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20-24°C).
11. Используя чистый наконечник пипетки, добавьте 150 мкл промывочного буфера в каждую лунку и перемешайте для ресуспендирования гранул.
12. Соберите данные с помощью прибора Lumindex, следуя рекомендациям производителя. Задержки более чем на 3 часа могут увеличить вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций. Верните неиспользованную часть промывочного буфера на хранение при температуре от 2 до 8 °C для дальнейшего использования.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества анализа LMX встроен в тест-систему путем включения четырех контрольных гранул (один положительный контрольный гранула и три отрицательных контрольных гранул). Гранулы отрицательного контроля (CON) измеряют фон в анализе и используются для нормализации сигнала гранул HLA. Эти гранулы должны показывать низкие значения MFI. Обратитесь к регистрационному листу конкретной партии для получения информации о наблюдаемых диапазонах для отрицательных контрольных гранул. Данные, выходящие за пределы диапазона, должны быть тщательно изучены.

гранула положительного контроля (зонд 77) покрыт человеческим IgG и должен давать значения MFI >10 000 с сывороткой Положительного контроля или Сывороткой Отрицательного контроля. Если значения <10 000 MFI получены с контрольными образцами, анализ может быть недостаточно промыт или конъюгат может быть скомпрометирован. Образцы пациентов могут демонстрировать широкий диапазон реактивности с положительным контрольным гранулом (зонд 77), но должны выдавать сигнал > 3500 MFI. В отсутствие сыворотки зонд 77 будет давать сильный сигнал, в то время как остальные гранулы будут иметь в среднем примерно 50 MFI или меньше. Если тестовая выборка выдает аналогичный набор значений, то, возможно, выборка была непреднамеренно опущена. Эти пробы следует повторить.

Положительные и отрицательные контрольные сыворотки поставляются с каждым набором для использования в качестве внешнего контроля анализа и должны включаться в каждый тестовый прогон. Положительная контрольная сыворотка должна иметь положительный результат для зонда I-01 и зонда II-01. Отрицательная контрольная сыворотка должна иметь отрицательный результат для всех гранул.

Анализ следует проводить в соответствии с рекомендациями на упаковке, а также выполнять с любыми другими процедурами контроля качества, которые соответствуют местным, государственным, федеральным требованиям и/или требованиям аккредитационных агентств.

Ключ: подчеркивание = добавление или существенное изменение LC1003IVDEN Ред. W Страница 4 из 6

РЕЗУЛЬТАТЫ

Чтобы определить, является ли тестируемый образец положительным на HLA-специфичные антитела класса I или класса II, сначала оценивают каждый отдельный гранула HLA, чтобы определить, является ли он положительным или отрицательным на антитела IgG.

Чтобы определить, является ли отдельный гранул HLA положительным, сначала разделите MFI отдельного гранул на MFI для каждого отрицательного контрольного гранул (CON1, CON2, CON3). Из этих коэффициентов вычитите корректирующий коэффициент фона (BAF) для соответствующей комбинации гранул/КОН. BAF представляет собой заранее заданное соотношение MFI для каждой комбинации борта / КОНУСА для компенсации фонового шума из-за изменения борта. Значения BAF указаны в регистрационном листе для конкретной партии, прилагаемом к комплекту.

Пример:

Индивидуальный бисерный MFI	- (BAF) = Скорректированный коэффициент 1
Отрицательный контроль 1 (CON1) MFI	
Индивидуальный бисерный MFI	- (BAF) = Скорректированный коэффициент 2
Отрицательный контроль 2 (CON2) MFI	
Индивидуальный бисерный MFI	- (BAF) = Скорректированный коэффициент 3
Отрицательный контроль 3 (CON3) MFI	

- Для PROBE I-01 и PROBE II-01 положительное значение для любого из расчетов указывает на положительную реакцию бусины.
- Для всех оставшихся гранул положительное значение для любых двух вычислений указывает на положительную реакцию гранул.
- Отрицательное значение для всех трех расчетов указывает на отрицательную реакцию гранул.

Оценка тестовых образцов

- Образец считается положительным на HLA-специфичные антитела класса I, если хотя бы один из семи (7) гранул HLA класса I является положительным.
- Образец считается положительным на HLA-специфичные антитела класса II, если хотя бы один из пяти (5) гранул HLA класса II является положительным.
- Образец считается отрицательным на HLA-специфичные антитела IgG, если все гранулы HLA оказались отрицательными.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

Результаты этого теста не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия клинического решения. Ошибочные результаты могут быть получены из-за бактериального загрязнения тестируемых материалов, неадекватных периодов инкубации, неадекватной промывки гранул и воздействия на конъюгат рассеянного света, а также из-за отсутствия тестируемых реагентов или этапов.

Присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулина в образце пациента может вызвать повышенное неспецифическое связывание и привести к ошибочным результатам в этом анализе.

Этот продукт обнаруживает антитела IgG, которые могут быть лимфоцитотоксичными, а могут и не быть. Обнаруженные антитела являются реактивными в пределах популяции доступных антигенов, перечисленных в Регистрационном листе.

Способность обнаруживать антитело (IgG) основана на аффинности и титре антитела, а также на относительной частоте целевого эпитопа, присутствующего на грануле. Антитела (IgG) с низким сродством и/или низким титром, которые специфичны для низкочастотных эпитопов, могут не быть обнаружены с помощью анализа LIFECODES LifeScreen Deluxe.

LifeScreen Deluxe состоит из уникальных гранул Lumindex, с которыми конъюгированы аффинно очищенные HLA-гликопротеины класса I и класса II HLA. Для PROBE I-01 аффинно очищенные гликопротеины HLA класса I получают из тромбоцитов 100 доноров крови европеоидов, 100 афроамериканцев и 100 испаноязычных доноров. Гликопротеины HLA класса I, аффинно очищенные от ВЭБ-трансформированных В-лимфоцитов и присоединенные к PROBE с I-02 по I-07, перечислены в регистрационном листе для конкретной партии. Для PROBE II-01 аффинно очищенные гликопротеины класса II HLA, используемые при изготовлении этого продукта, получены из трансформированных EBV В-лимфоцитов, представляющих следующие антигены класса II HLA: DR1, DR4, DR7, DR8, DR9, DR10, DR11, DR12, DR13, DR14, DR15, DR16, DR17, DR18, DR103, DR51, DR52 и DR53. Гликопротеины класса II HLA, аффинно очищенные от ВЭБ-трансформированных В-лимфоцитов и присоединенные к PROBE II-02-II-05, перечислены в регистрационном листе для конкретной партии.

Определение реактивности антител для образца основано на наличии по меньшей мере одного положительного гранул. Реактивность каждого отдельного гранул основана на достижении минимального количества положительных скорректированных соотношений. Некоторые образцы могут давать скорректированные соотношения, которые находятся на уровне или близки к предельным значениям, и им присваивается положительная реактивность на основе одного положительного скорректированного соотношения. Впоследствии, при определении реактивности антител для образца, протестированного с помощью анализа LIFECODES LifeScreen Deluxe, должны учитываться конкретные результаты всех гранул, количество положительных скорректированных соотношений, которые требуются для каждой гранулы, и если каждое из трех скорректированных соотношений для каждой гранулы находится на уровне или около порогового значения.

Из-за сложного характера тестирования на HLA квалифицированный персонал должен ознакомиться с интерпретацией данных. Знание истории болезни пациента, а также понимание перекрестнореактивных групп могут быть полезны при определении реактивности антител к конкретной сыворотке.

ДИАГНОСТИКА

ПРОБЛЕМА	ПРИЧИНА	РЕШЕНИЕ
Низкое количество гранул	Смесь гранул плохо взвешена	Импульсный вихрь для полного возобновления
	Неисправности прибора – отсутствие калибровки	Руководство по эксплуатации приборов
	Неисправности приборов - блокировка потока проб	Руководство по эксплуатации приборов

Ключ: Подчеркивание = добавление или
существенное изменение:
▲ = Удаление
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	Фотоотбеленные гранулы	Использовать новый набор
	Вакуумное давление слишком сильное/гранулы прилипли к мембране	Уменьшить силу вакуума
Превышен порог контроля	Плохая очистка	Повторяйте и контролируйте очистку
	Низкое качество образца	Изменить
	Фотоотбеливание	Использовать новый набор
Сбой положительного порога	Плохая очистка	Повторяйте и контролируйте очистку

ОСОБЫЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когда в соответствии с описанной процедурой используются наборы LifeScreen Deluxe, результаты показывают наличие или отсутствие антител HLA IgG. При обнаружении антител, специфичных для первого класса HLA, Deluxe-наборы LifeScreen показали 100% -положительность (97,6-100%), 91% -отрицаемость (87,3-94,1%) и 95% согласие для 417 образцов SERA, оцененных по сравнению с результатами, полученными с методом LifeScreen (95%). При обнаружении антител II класса HLA, Подарочные наборы LifeScreen показали 100% ко-положительность (97,8-100%) 93% отрицания (89,5-95,8%) и 96% согласия для 424 образцов SERA, оцениваемых по сравнению с результатами, полученными с помощью метода LifeScreen (95% доверительные пределы).

В лабораторных испытаниях были оценены и не помешали LIFECODES LifeScreen Deluxe: Ремикейд (Centocor), Ритуксин (Genentech), Зенапакс (Roche), Кампат (Genzyme) и Гаммагурд (Baxter). Напротив, Тимоглобулин (Гензим) показал, что вызывает ложные положительные результаты. Образцы, содержащие Тимоглобулин, могут дать неправильные результаты.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Клейн, Дж, Сато, А. Система HLA. N. Engl. J. Med. 2000; 343:702 и 343:782.
2. Пархам, П. Иммунная система. Издательство Гарланд, Н.У. и Лондон. 2000; 55.
3. Родей, ДЖ. HLA Beyond Tears (2-е издание). ДеНово, Inc. Durango, CO. 2000; 163.
4. Маккенна, Р. М.; Такемото, Словакия; Тераки, ИП. Антитела к HLA после трансплантации паренхиматозных органов. Трансплантация 2000; 69:319.

ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

Информация о производителе: Компания Immucor Медицинская Диагностика GmbH Роберт-Бош-Штрассе,32, 63303 Драйайх, Германия Тел. +49 (0)6103 80560, Факс: +49 (0) 6103 8056199



Контактная Информация Службы Технической :

US: Lifecodestechsupport@immucor.com

Международная: Tech.support.int.transplant@immucor.com

Выдан: 2021-03-16



Документация по продукции и переводы доступны по адресу: www.Immucor.com

П А С П О Р Т Н А П Р О Д У К Ц И Ю

LIFECODES® HLA-SSO TYPING KITS

Для использования в лабораторных условиях IVD

Rx ONLY

СОДЕРЖАНИЕ

Определение символов.....	1	Инструкция по применению.....	6
Наборы/Реагенты по каталожному номеру.....	2	А. Очистить геномную ДНК.....	6
Назначению.....	4	В. Амплификация ДНК (ПЦР).....	6
Резюме и пояснение	4	С. Гибридизация.....	7
Принципы процедуры.....	4	Д. Анализ с помощью прибора Luminex....	8
Реагенты.....	5	Результаты.....	8
А. Идентификация.....	5	Контроль качества.....	8
В. Предупреждения и меры предосторожности...	5	Ограничения процедуры.....	9
С. Инструкции по хранению.....	5	Устранение неисправностей.....	9
Д. Очистка или обработка для использования....	5	Ожидаемые значения.....	10
Е. Признаки нестабильности.....	5	Особые эксплуатационные характеристики...	10
Требования к приборам.....	5	Литература.....	11
Сбор и подготовка образцов.....	5	Лицензии с ограниченным сроком.....	11
Процедура.....	5	Информация о производителе	11
А. Предоставленные материалы.....	5	Используемые товарные знаки.....	11
В. Материалы, требуемые, но не предоставляемые..	6	Приложение А.....	12
С. Доп. материалы, предоставляемые пользователем	6	Гель-электрофорез.....	12
		Интерпретация геля.....	12

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИМВОЛОВ (Товарные знаки и дополнительные документы)

Код партии		Номер каталога		Диапазон температур (хранение)		Ограничения температуры	
Использовать до даты		Хранить вдали от света		Достаточно для N испытаний		Не замораживать	
Внимание – см. инструкцию по применению		Ознакомьтесь с инструкцией по применению		Производитель		Уполномоченный представитель в Европейском сообществе	
Опасность		Использование только по рецепту	Rx ONLY	Для использования в лабораторных условиях		Уникальная идентификация устройства	

НАБОРЫ/РЕАГЕНТЫ ПО КАТАЛОЖНОМУ НОМЕРУ

LCT-A Набор для типирования LIFECODES HLA-A SSO, номер по каталогу 628911

LM-A Набор для типирования LIFECODES HLA-A для использования с Luminex®

Продукт №. 628410-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	 50 Достаточно для 50 образцов 
MX-A	LIFECODES HLA-A Мастер Микс	628405	870 µL	2 до 8°C	
BM-A	LIFECODES HLA-A Пробная смесь ‡	628453	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628155	9.9 mL	18 до 30°C	

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	
------------	--------------------------	--------	-------	----------------	--

LCT-AE Набор для типирования LIFECODES HLA-A eRES SSO, номер по каталогу 628913

LC-AE Набор для типирования LIFECODES HLA-A eRES для использования с Luminex

Продукт №. 628459-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	Σ 50 Достаточно для 50 образцов
MX-A	LIFECODES HLA-A Мастер Микс	628405	870 µL	2 до 8°C	
BM-A	LIFECODES HLA-A Пробная смесь ‡	628453	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	CE 0197
BM-AeRES	LIFECODES HLA-A eRES Пробная смесь ‡	628455	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C	

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	CE
----------------	--------------------------	--------	-------	----------------	-------------------------------------

LCT-B Набор для типирования LIFECODES HLA-B SSO, номер по каталогу 628915

LM-B Набор для типирования LIFECODES HLA-B для использования с Luminex

Продукт №. 628510-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	 50 Достаточно для 50 образцов
MX-B	LIFECODES HLA-B Мастер Микс	628556	870 µL	2 до 8°C	
BM-B	LIFECODES HLA-B Пробная смесь ‡	628553	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628155	9.9 mL	18 до 30°C	
TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	

LCT-BE Набор для типирования LIFECODES HLA-B eRES SSO, номер по каталогу 628917

LC-BE Набор для типирования LIFECODES HLA-B eRES для использования с Luminex

Продукт №. 628559-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	 50 Достаточно для 50 образцов 
MX-B	LIFECODES HLA-B Мастер Микс	628556	870 µL	2 до 8°C	
BM-B	LIFECODES HLA -B Пробная смесь ‡	628553	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
BM-BeRES	LIFECODES HLA-B eRES Пробная смесь ‡	628554	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C	
TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	

‡Пробные смеси чувствительны к свету: сведите воздействие света к минимуму.

ОСТОРОЖНО: Не используйте компоненты с истекшим сроком годности.

ОСТОРОЖНО: Отклонения от рекомендуемого протокола и необходимые материалы, включая полимеразу LIFECODES Taq, не были подтверждены.

LCT-CE Набор для типирования LIFECODES HLA-C eRES SSO номер по каталогу 628921**LC-CE** Набор для типирования LIFECODES HLA-C eRES для использования с Lumineх Продукт №. 628850-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	50 Достаточно для 50 образцов
MX-C	LIFECODES HLA-C Мастер Микс	628803	870 µL	2 до 8°C	
BM-CeRES	LIFECODES HLA-C eRES Пробная смесь ‡	628804	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	CE 0197
DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C	

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	CE
----------------	--------------------------	--------	-------	----------------	---

LCT-DR1 Набор для типирования LIFECODES HLA-DRB1 SSO номер по каталогу 628923**LM-DR1** Набор для типирования LIFECODES HLA-DRB1 для использования с Lumineх Продукт №. 628751-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	 Достаточно для 50 образцов
MX-DR1	LIFECODES HLA-DRB1 Мастер Микс	628753	870 µL	2 до 8°C	
BM-DR1	LIFECODES HLA-DRB1 Пробная смесь ‡	628752	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628155	9.9 mL	18 до 30°C	

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	
------------	--------------------------	--------	-------	----------------	--

LCT-DR1E Набор для типирования LIFECODES HLA-DRB1 eRES SSO номер по каталогу 628925**LC-DR1E** Набор для типирования LIFECODES HLA-DRB1 eRES для использования с Lumineх Продукт №. 628759-50

Reagent		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	 Достаточно для 50 образцов
MX-DR1	LIFECODES HLA-DRB1 Мастер Микс	628753	870 µL	2 до 8°C	
BM-DR1	LIFECODES HLA-DRB1 Пробная смесь‡	628752	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
BM-DR1eRES	LIFECODES HLA-DRB1 eRES Пробная смесь ‡	628755	810 µL	2 до 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C	
TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C	

LCT-DRB3,4,5 Набор для типирования LIFECODES HLA-DRB 3,4,5 SSO номер по каталогу 628927**LC-DRB3,4,5** Набор для типирования LIFECODES HLA-DRB 3,4,5 для использования с Lumineх Продукт №. 629200-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	Σ 50 Достаточно для 50 образцов
MX-DRB3,4,5	LIFECODES HLA-DRB 3,4,5 Мастер Микс	629201	870 μL	2 до 8°C	
BM-DRB3,4,5	LIFECODES HLA-DRB 3,4,5 Пробная смесь [‡]	629202	810 μL	2 to 8°C Защищать от света	
DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C	

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 μL	-10°C до -30°C	CE 0197
----------------	--------------------------	--------	-------	----------------	--

‡Пробные смеси чувствительны к свету: сведите воздействие света к минимуму.

ОСТОРОЖНО: Не используйте компоненты с истекшим сроком годности.

ОСТОРОЖНО: Отклонения от рекомендуемого протокола и необходимые материалы, включая полимеразу LIFECODES Taq, не были подтверждены.

LCT-DQAB Набор для типирования LIFECODES HLA-DQA1/B1 SSO номер по каталогу 628930

LC-DQAB Набор для типирования LIFECODES HLA-DQA1/B1 для использования с Luminex Продукт №. 200210-50

Реагент		Номер продукта	Объем	Хранение	 Достаточно для 50 образцов	
MX-DQAB	LIFECODES HLA DQA1/B1 Мастер Микс	200200	870 µL	2 до 8°C		
BM-DQAB	LIFECODES HLA DQA1/B1 Probe Mix ‡	200201	810 µL	2 до 8°C Защищать от света		

DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C		
-----------	------------------------	--------	---------	------------	---	--

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C		
------------	--------------------------	--------	-------	----------------	---	--

LCT-DPAB Набор для типирования LIFECODES HLA-DPA1/B1 SSO номер по каталогу 628936

LC-DPAB Набор для типирования LIFECODES HLA-DPA1/B1 для использования с Luminex Продукт №. 200110-50

Реагент		Номер продукта	Объем заполнения	Хранение	 Достаточно для 50 образцов	
MX-DPAB	LIFECODES HLA DPA1/B1 Мастер Микс	200100	870 µL	2 до 8°C		
BM-DPAB	LIFECODES HLA DPA1/B1 Probe Mix ‡	200101	810 µL	2 до 8°C Защищать от света		

DS	Раствор для разведения	628515	19.7 mL	18 до 30°C		
-----------	------------------------	--------	---------	------------	---	--

TAQ	Полимераза LIFECODES Taq	628075	25 µL	-10°C до -30°C		
------------	--------------------------	--------	-------	----------------	---	--

‡Пробные смеси чувствительны к свету: сведите воздействие света к минимуму.

ОСТОРОЖНО: Не используйте компоненты с истекшим сроком годности.

ОСТОРОЖНО: Отклонения от рекомендуемого протокола и необходимые материалы, включая полимеразу LIFECODES Taq, не были подтверждены.

НАЗНАЧЕНИЕ

Типирование ДНК аллелей HLA класса I и класса II, чтобы помочь в подборе донора и реципиента для переливания крови и трансплантации.

РЕЗЮМЕ И ПОЯСНЕНИЯ

Типирование HLA на основе ДНК с использованием ПЦР-амплифицированной ДНК является обычной лабораторной процедурой. ПЦР-амплификация ДНК используется в качестве средства для обогащения выбранной области ДНК. Для типирования HLA используется последующий анализ для определения свойств амплифицированной ДНК. При типировании HLA использовались несколько типов анализов, таких как SSP (1), прямой SSOP (2), RFLP (3) и технологии обратного SSOP dot blot (4). Подобно методам SSOP и обратного дот-блоттинга, наборы для типирования LIFECODES HLA-SSO используют специфичные для последовательности олигонуклеотиды (SSOS) для идентификации того, какие аллели HLA присутствуют в образце, амплифицированном ПЦР. Именно набор используемых SSO, а не методологии, определяет способность различать различные аллели, присутствующие в ПЦР-амплификации. В то время как методы обратного дот-блоттинга и SSOP используют ферментативные метки и колориметрические субстраты, которые требуют последующей разработки, анализ LIFECODES представляет собой гомогенную мультиплексную систему. То есть все SSO анализируются одновременно, и весь анализ проводится в одном реакционном сосуде с добавлением одного реагента.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Процедура типирования LIFECODES HLA-SSO основана на гибридизации одноцепочечного продукта ПЦР, меченного биотином, с зондами SSO. Амплификация ДНК с помощью ПЦР обычно использует эквимольные количества как прямого, так и обратного праймера для получения двухцепочечного продукта ДНК. Однако, если количество одного праймера превышает количество другого, реакция приведет к образованию некоторого одноцепочечного продукта ДНК в дополнение к двухцепочечному продукту. Во время начальных циклов этапа амплификации LIFECODES генерируется двухцепочечная ДНК. Как только лимитирующий праймер исчерпан, оставшийся праймер использует двухцепочечный продукт в качестве матрицы для генерации одноцепочечной ДНК. Этот способ генерирует как двухцепочечные, так и одноцепочечные продукты, которые при денатурации оба будут участвовать в реакции гибридизации.

Каждый из различных зондов может быть гомологичен последовательности в амплифицированной ДНК, которая уникальна для аллеля или группы аллелей. Другими словами, эти зонды сконструированы таким образом, что каждый зонд предпочтительно гибридизуется с комплементарной областью, которая может присутствовать или не присутствовать в амплифицированной ДНК. Кроме того, амплифицированную ДНК также гибридизуют с одним или несколькими консенсусными зондами, гомологичными последовательностям, присутствующим во всех аллелях локуса. Типирование SSO может зависеть от типа биологического материала, метода очистки, количества и целостности геномной ДНК. Следовательно, сигнал, полученный для консенсусного зонда (зондов), может служить индикатором успеха процедур амплификации и гибридизации. После гибридизации добавляют конъюгированный с R-фикоэритрином стрептавидин (SA-PE), который связывается с любой захваченной ДНК. Сигнал, полученный с помощью консенсусного зонда, может быть использован для нормализации сигнала аллель-специфических зондов и коррекции изменений в количестве амплифицированного продукта в реакции гибридизации. Анализ результатов, полученных в результате типирования SSO, может быть использован для определения наличия или отсутствия определенных последовательностей ДНК в амплифицированной ДНК и для идентификации возможных аллелей в образце.

Для процедуры ввода LIFECODES HLA-SSO зонды прикрепляются к микросферам Luminex, предназначенным для использования с приборами Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D ®.

С помощью приборов Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D можно смешивать и анализировать до 100 различных популяций микросфер Luminex, поскольку каждую популяцию микросфер можно отличить по ее уникальной флуоресцентной сигнатуре или цвету. Для HLA-A eRES, HLA-B eRES и HLA-DRB1 eRES предусмотрена вторая смесь шариков, так что общее количество зондов может превышать 100. К каждой цветной микросфере может быть присоединен другой зонд SSO. Следовательно, смесь из нескольких зондов можно отличить друг от друга благодаря их ассоциации с микросферами определенного цвета. Приборы Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D также способны количественно определять относительные количества меченого продукта ПЦР, гибридизующегося с каждой микросферой Luminex. Следовательно, относительный сигнал, полученный с помощью SSO-зондов в анализе LIFECODES, как и при использовании других методов SSOP, может быть использован для определения зондов как обладающих положительной или отрицательной реактивностью с амплифицированным образцом ДНК (см. раздел "Результаты"). Это, в свою очередь, предоставляет информацию, необходимую для определения фенотипа HLA образца.

РЕАГЕНТЫ

А. Идентификация

Полный перечень продуктов и каталожные номера см. в таблицах в разделе "Реактивы по каталожному номеру".

В. Предупреждения и меры предосторожности

1. Для использования в лабораторных условиях.
2. Отдельные пипетки должны быть предназначены как для манипуляций перед ПЦР, так и для манипуляций после ПЦР.
3. **Биологическая опасность:** Все биологические образцы и образцы крови должны рассматриваться как потенциально инфекционные. **При работе с ними используйте универсальные меры предосторожности.**
4. Пробные смеси содержат опасное соединение. Избегайте контакта с кожей и глазами и утилизируйте все материалы после использования в соответствии с правилами. Дополнительную информацию см. в Паспортах безопасности материалов.
5. Результаты, полученные с помощью этих наборов, не должны использоваться в качестве единственного основания для принятия клинического решения, влияющего на пациента.

С. Инструкции по хранению

1. Для получения информации о надлежащих температурах хранения обратитесь к этикетке на упаковке компонентов комплекта.
2. Пробная смесь и конъюгированный с R-фикоэритрином стрептавидин чувствительны к свету, **ХРАНИТЬ ВДАЛИ ОТ СВЕТА; НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.**
3. Не используйте компоненты, срок годности которых истек.

С1. Очистка или обработка для использования

См. раздел "Сбор и подготовка образцов".

Е. Признаки нестабильности

1. Если соли выпали в осадок из раствора во время транспортировки или хранения, полностью растворите их перед использованием путем вихревого перемешивания при комнатной температуре (от 18 до 30°C).
2. Не используйте стрептавидин, конъюгированный с R-фикоэритрином, который был заморожен во время транспортировки или хранения.
3. Наборы остаются стабильными минимум в течение 6 месяцев после вскрытия при хранении в соответствии с рекомендациями.

ТРЕБОВАНИЯ К ПРИБОРАМ

1. Прибор Luminex 100 или 200 и платформа XY (номер продукта 888300, 888302) или Luminex FLEXMAP 3D (номер продукта 888303).
2. Были проверены следующие термоциклеры: 96-луночная система GeneAmp® PCR System 9700, настроенная на режим MAX (базовый номер по каталогу N8050200, номер по каталогу Gold Block 4314878), 96-луночный термоциклер Veriti™, настроенный на режим 9700 MAX (№ по каталогу 4375786). См. Таблицу 2 для получения информации о максимальных скоростях рамп. Внимание: Другие термоциклеры и линейные скорости не проверялись.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

а. ДНК человека можно выделить из цельной крови, лейкоцитарных пленок и буккальных мазков с помощью проверенного метода, который соответствует приведенным ниже критериям. В исследованиях, проведенных для выделения очищенной геномной ДНК, использовались следующие наборы:

Набор для выделения ДНК

Мини-набор ДНК QIAamp (Qiagen)
Набор для анализа крови Gentra Puregene (Qiagen) Набор для очистки ДНК Maxwell 16 (Promega) Система мини-препарирования тканей ReliaPrep gDNA (Promega)
Набор для буккальных клеток Gentra Puregene (Qiagen)

Типы образцов

Цельная кровь, лейкоцитарная пленка (ACD, ЭДТА) и буккальные мазки Цельная кровь, лейкоцитарная пленка (ACD, ЭДТА)
Цельная кровь, лейкоцитарная пленка (ACD, EDTA)
Буккальные тампоны
Буккальные тампоны

- b. ДНК, извлеченная из крови, консервированной в EDTA и ACD (кислый цитрат-декстроза), была протестирована и показала ожидаемые результаты в этом анализе. ДНК, выделенная из крови, консервированной в гепарине, не может быть использована в этом анализе. Другие консерванты не тестировались.
- c. Выделенная ДНК должна находиться в 10 мМ трис, pH 8,0-9,0, или в воде без нуклеазы. Если присутствует хелатирующий агент, такой как ЭДТА, конечная концентрация хелатирующего агента не должна превышать 0,5 мМ.
- d. Присутствие спирта, детергентов или солей может неблагоприятно повлиять на амплификацию ДНК.
- e. Конечная концентрация ДНК должна составлять от 10 до 200 нг/мкл.
- f. Измерения поглощения образца ДНК при 260 и 280 нм должны давать отношение 1,65 к 2,0.
- g. ДНК можно использовать сразу после выделения или хранить при -20°C до 1 года. Следует избегать повторного замораживания/оттаивания, так как это может привести к деградации ДНК.

ПРОЦЕДУРА

Внимание: Отклонения от рекомендуемого протокола и требуемых материалов не были подтверждены

А. Предоставленные материалы

(Для получения конкретной информации см. таблицы в разделе Наборы/Реагенты по каталожным номерам)

- Соответствующий Мастер-микс (MX)
- Соответствующий Пробная смесь (BM)
- Раствор для разбавления (DS)
- Таблица(ы) Пороговых значений, Диаграмма (ы) Попадания Зонда
- Полимераза LIFECODES Taq (LIFECODES Кат. No 628075)

В. Материалы, требуемые, но не предоставляемые

При валидации набора были использованы следующие материалы:

- Жидкость для оболочек Luminex (LIFECODE Cat. № 628005) или Жидкость для оболочек Luminex Sheath Fluid Plus (коды жизненного цикла Кат. № 628010)
- Вода, не содержащая нуклеаз (LIFECODES Кат. № 757003; 20 мл)
- Пробирки для ПЦР и колпачки - Полоски для пробирок Corning® Thermowell (Costar® Cat. № 6542, LIFECODES Cat. № 888640) или Кислородные 8-полосные ПЦР-пробирки (Axygen Cat. № PCR0208CPC) или Applied Biosystems MicroAmp 8-Tube Strip и MicroAmp 8-Cap Strip (ABI Cat. № N8010580 и N8010535) или Corning® Thermowell PCR 96-луночные пластины (Cat. № CLS 6551) или 96- луночный ПЦР-планшет Thermo scientific ABGene® Superplate (кат. № AB-2100)
- Табличка Costar® (Costar® Cat. № 6509, LIFECODES Cat. № 888630)
- Прозрачная полиэтиленовая лента Thermowell (Costar® № 6524 (LIFECODES кат. № 888635)
- Стрептавидин, конъюгированный с R-фикоэритрином (SA-PE), 1 мг/мл (LIFECODES Cat № 628511)
- Калибровочные наборы Luminex (калибровочный набор Luminex 100/200, набор для проверки производительности Luminex 100/200, LIFECODES Cat. № 628018 и 628019 соответственно) или калибровочные наборы FLEXMAP 3D (калибровочный набор Luminex FLEXMAP 3D, набор для проверки производительности Luminex FLEXMAP 3D, LIFECODES Cat № 888307 и 888308 соответственно). R-Phycoerythrin Conjugated Streptavidin (SA-PE), 1mg/mL (LIFECODES Cat No. 628511) Luminex Calibration Kits (Luminex 100/200 Calibration Kit, Luminex 100/200 Performance Verification Kit, LIFECODES Cat. Nos. 628018 and 628019 respectively) or FLEXMAP 3D Calibration Kits (Luminex FLEXMAP 3D Calibration Kit, Luminex FLEXMAP 3D Performance Verification Kit, LIFECODES Cat No. 888307 and 888308 respectively)

Дополнительные материалы, предоставляемые пользователем

- Вихревой миксер
- Силиконовый компрессионный коврик. Axugen Scientific, № CM-FLAT или эквивалент
- Ультразвуковой аппарат для ванны
- Наконечники микроцентрифужных барьерных фильтров
- Пипетки, многоканальные пипетки и наконечники (1-20 мкл, 20-200 мкл, 1000 мкл)
- Программное обеспечение для анализа электронных таблиц
- Тепловой блок
- 70% изопропанола или 20% отбеливателя
- Фиксирующий лоток – Applied Biosystems № 403081 (только для использования с термоциклером 9700)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ПРИМЕЧАНИЯ:

- Пробные смеси и SA-PE чувствительны к свету: храните вдали от света и не замораживайте.
- Прогревайте гранулы при температуре от 55° до 60 °С не менее 5-10 минут, чтобы тщательно растворить компоненты в пробной смеси.
- Кратковременно обработайте ультразвуком (~ 15 секунд), затем перемешайте вихревым зондом в течение примерно 15 секунд, чтобы тщательно взвесить гранулы.
- Соблюдайте крайнюю осторожность в процессе аликвотации, используя калиброванные пипетки. Несоблюдение этого требования может привести к потере реагента и повреждению образца.
- Все температуры должны точно поддерживаться. Колебания всего лишь на +/- 0,5°С могут повлиять на результаты.
- * На стадии гибридизации образцы не должны оставаться в разбавленном состоянии при 56°С более 5 минут (см. раздел "Результаты").
- Рекомендуется провести анализ амплифицированных образцов как можно скорее. Если образцы не могут быть протестированы на приборах Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D в тот же день, усиленный продукт можно хранить до 3 дней при температуре 2-8 °С перед использованием. Для более длительного хранения храните при температуре –20°С до одной недели до готовности к анализу. Усиленный продукт можно замораживать и размораживать только один раз. Повторное замораживание и оттаивание приведет к деградации амплифицированных образцов и даст плохие результаты при анализе.

А. Очистить геномную ДНК, используя метод по выбору; конечная концентрация должна составлять от 10 до 200 нг/мкл. При необходимости подкорректируйте с помощью воды, не содержащей нуклеазы. Храните все образцы в одинаковых концентрациях.

В. Амплификация ДНК (ПЦР)

- Дайте основной смеси нагреться до комнатной температуры (от 18 до 30°С).
- Осторожно перемешивайте в течение примерно 10 секунд. Это гарантирует, что соли находятся в растворе. Короткое вращение (5-10 секунд) в микроцентрифуге, чтобы содержимое попало на дно пробирки
- Используя приведенную ниже таб. 1, подготовьте компоненты для амплификации для n+1 реакций, используя указанное количество каждого компонента на реакцию (за исключением ДНК). Доведите до конечного объема 20 мкл за реакцию с водой, не содержащей нуклеазы. Аккуратно перемешайте.
- Наберите пипеткой соответствующее количество геномной ДНК (от 40 до 120 нг) в пробирки для ПЦР.
- Аликвотите амплификационную смесь в пробирки для ПЦР, содержащие геномную ДНК. (Общий объем амплификационной смеси и геномной ДНК должен составлять 20 мкл для каждой реакции образца.)
- Плотно закрывайте пробирки, чтобы предотвратить испарение во время ПЦР.
- Поместите образцы в термоциклер и запустите программу, см. Таблицу 2 и 3.

Таблица 1. Реакционные компоненты для амплификации

Компоненты	Количество на реакцию образца ПЦР
Мастер-микс LIFECODES	6 µL
Геномная ДНК 10-200нг/мкл	Всего ~80 нг
Полимераза LIFECODES Taq	0.2 µL (1 U)
Вода, не содержащая нуклеаз	До 20 мкл конечного объема

Таблица 2. Условия для амплификации в термоциклере

Термоциклер	Режим (скорость нарастания)
Система GeneAmp® ПЦР 9700	МАКС режим (3.9°C/сек)
96-луночный термоциклер Veriti™	9700 МАКС режим (3.9°C/сек)

Таблица 3. Условия термоциклера для амплификации

Шаг	Температура и инкубационный период	Количество циклов
1	95°C в течение 3 мин.	1
2	95°C в течение 15 сек	12
	60°C в течение 30 сек	
	72°C в течение 30 сек	
3	95°C в течение 10 сек	28
	63°C в течение 30 сек	
	72°C в течение 30 сек	
4	72°C в течение 2 мин	1
5	4°C всегда	1

Примечание. Чтобы убедиться в амплификации образца, см. раздел «Гель-электрофорез продукта» (Приложение А).

С. Гибридизация

- Убедитесь, что компоненты гибридизационного буфера пробной смеси LIFECODES солюбилизированы и что гранулы тщательно суспендированы.
- Включите прибор LumineX 100 или 200 и платформу XY или LumineX FLEXMAP 3D, чтобы обеспечить 30-минутный прогрев.

- Прогрейте пробную смесь в термоблоке при температуре от 55 ° до 60 °C не менее 5-10 минут, чтобы компоненты пробной смеси полностью растворились.
- Кратковременно обработайте ультразвуком (~ 15 секунд), затем перемешайте вихревым зондом в течение примерно 15 секунд, чтобы тщательно взвесить гранулы.
- Смешайте 15 мкл соответствующей смеси зондов с 5 мкл продукта ПЦР, специфичного для локуса, в каждую лунку 96-луночного планшета thermal cycler (Costar № 6509). Примечание. Для комплектов eRES A, eRES B и DRB1 eRES требуется две лунки на образец, одна для пробной смеси eRES и одна для стандартной пробной смеси. Смесь зондов eRES и стандартная смесь зондов не обязательно должны выполняться в одном и том же цикле. Для получения результатов eRES для этих наборов требуются обе смеси зондов. Комплекты C eRES содержат только один стандартный зонд
смесь. При аликвотировании пробной смеси более чем в 10 лунок осторожно перемешивайте пробную смесь после каждого набора из десяти. Уплотнительная пластина с полиэтиленовой лентой (артикул № 6524).
- Перед гибридизацией положите силиконовый компрессионный коврик поверх пластины.
- Гибридизируйте образцы при следующих условиях инкубации:

Таблица 4. Условия термоциклера для гибридизации

97°C в течение 2 минут
47°C в течение 10 минут
56°C в течение 8 минут
56°C ВЫДЕРЖАТЬ

- Убедитесь, что лазер обнаружения на приборах LumineX 100, LumineX 200 или LumineX FLEXMAP 3D включен по крайней мере на 30 минут до окончания гибридизации.
- Пока образцы гибридизуются, приготовьте раствор для разведения 200:1/смесь для придания формы. Смешайте 170 мкл разбавляющего раствора (DS) и 0,85 мкл 1 мг/мл SA-PE на образец. Рекомендуется приготовить достаточное количество смеси разбавляющего раствора для n + 1 образцов, чтобы учесть потери при пипетировании. (См. Таблицу 5).
 - Храните раствор для разбавления / смесь ОБРАЗЦОВ в темноте при комнатной температуре; ФОРМА чувствительна к свету! Раствор можно обрабатывать при температуре 45°C в течение 5 минут и перемешивать по прибытии, чтобы убедиться, что все компоненты находятся в растворе. Перед приготовлением смеси раствор для разбавления должен быть комнатной температуры (от 18 до 30°C).
Приготовьте перед использованием и выбросьте все оставшиеся порции.

Таблица 5. Объемы приготовления разбавляющего раствора

# из образцов	Раствор для разбавления (DS)	SA-PE
1	170 µL	0.85 µL
5	850 µL	4.25 µL
10	1700 µL	8.5 µL
20	3400 µL	17 µL
50	8500 µL	42.5 µL

Примечание: НЕ ОТМЕНЯЙТЕ ПРОГРАММУ ГИБРИДИЗАЦИИ ДО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЛОТКА ИЗ ТЕРМОЦИКЛЕРА!

- При температуре 56°C, пока лоток находится на термоциклере, разбавьте каждый образец 170 мкл приготовленного разбавляющего раствора / смеси SA-PE. **Очень важно разбавить все образцы в течение 5 минут (после 8-минутной выдержки при 56°C).**
- Извлеките лоток для образцов из термоциклера и поместите его в прибор LumineX 100, LumineX 200 или LumineX FLEXMAP 3D Instrument.

D. Проанализируйте образец с помощью прибора Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D*

Для достижения наилучших результатов немедленно проанализируйте образцы с помощью прибора Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D. Образцы можно считывать в течение 30 минут после разбавления. Если не считать сразу, защитите образцы от света.

1. Включите прибор Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D в промежутке от 30 минут до 4 часов перед анализом образцов.
2. Перед анализом образцов на приборах Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D настройте пакетный запуск, с помощью которого будут анализироваться образцы.
 - a) Выберите «Создать новый пакет» в меню «Файл».
 - Например, при анализе на HLA-DRB1 добавьте пакет для HLA-DRB1.
 - Шаблон пакета предоставляется и называется, в данном случае, HLA-DRB1.
 - Пожалуйста, обратите внимание, что версии шаблонов зависят от номера партии и соответствуют номерам партий комплекта.
 - Следуйте пошаговым инструкциям, которые появляются на экране для создания пакетов.
 - При присвоении имени пакету не ставьте запятые в названии, поскольку информация после запятой будет потеряна при экспорте данных.
 - Дополнительные инструкции по созданию пакетов и мультисборников см. в Руководстве пользователя Luminex.
 - b) Щелкните значок извлечения, чтобы извлечь держатель пластины. Поместите 96-луночную термоциклирующую пластину с образцами в нагревательный блок ХУР, установленный на держателе пластины.
 - c) Щелкните значок "Убрать". Теперь образцы готовы к анализу. Перед началом прогона следует выполнить первый шаг.
 - d) После того, как образцы были пропущены через прибор, следует выполнить этап дезинфекции 70%-ным изопропанолом или 20%-ным бытовым отбеливателем, за которым следует две стадии промывки. На этом этапе прибор можно выключить, если он не будет использоваться в течение оставшейся части дня.
3. После завершения пакетной обработки данные экспортируются в виде файла значений, разделенных запятыми (csv). Эти файлы называются "ВЫХОДНЫЕ данные".CSV и сохраняются в папке с именем пакета. Затем эти данные становятся доступными для выполнения заданий на ввод текста, как описано ниже.
4. Обратитесь к Руководству пользователя Luminex по эксплуатации прибора, включая процедуры ежедневного запуска, калибровки, технического обслуживания и выключения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

СОПОСТАВЬТЕ ЭТО!™ Программное обеспечение DNA (▲ v1.3 с текущими применимыми исправлениями, доступными в Клиентском центре Intutis) предназначено в качестве вспомогательного средства при анализе наборов для ввода SSO LIFECODES.

Образец набора текста можно выполнить следующим образом:

Сгенерированные CSV-файлы можно открывать, а данные обрабатывать с помощью обычных программ для работы с электронными таблицами, таких как Microsoft Excel, Lotus 123, Corel Quattro Pro или аналогичного программного обеспечения. Анализ состоит из следующих этапов:

- 1) Убедитесь, что выполнено минимальное количество событий для каждого единого входа в каждой выборке. Эта информация находится в разделе Тип данных: Количество CSV-файла.
- 2) Определите, что значения консенсусных зондов для каждого образца превышают их минимальную среднюю интенсивность флуоресценции или MFI. Минимальные пороговые значения зависят от конкретной партии и могут быть найдены в таблице пороговых значений.

Осторожность:

- Для получения достоверных результатов необходимо достаточное количество данных, собранных прибором Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D Instrument.
 - Соберите не менее 40 событий для HLA-DQA1/B1 (артикул 628930) и HLA-DPA1/B1 (артикул 628936). Соберите не менее 60 событий для остальных наборов, перечисленных в разделе "НАБОРЫ/РЕАГЕНТЫ ПО НОМЕРУ КАТАЛОГА", или минимальное количество событий, указанное в документах на конкретную партию.
- 3) Вычитите значение фонового контроля для каждого зонда из значений образцов, чтобы получить набор данных с коррекцией фона. Значения фонового контроля находятся в таблице порогов и зависят от партии. Фоновые значения - это средние значения MFI для каждой бусины, чтобы компенсировать фоновый шум из-за вариаций бусин.
 - 4) Для каждого образца разделите данные с поправкой на фон для каждого зонда на значение с поправкой на фон для соответствующего консенсус-зонда, получив нормализованный набор данных.

$$\frac{\text{MFI (Зонд)} - \text{MFI (Контрольная заготовка для зонда)}}{\text{MFI (консенсус)} - \text{MFI (контрольный бланк для консенсуса)}}$$

- 5) Для каждого датчика запишите нормализованное значение в таблице пороговых значений.
- 6) После присвоения всех значений шаблон попаданий зонда (т. е. сочетание всех положительных и отрицательных назначений для данной пробы) можно сравнить с представленными таблицами попаданий зонда.

Осторожно:

- Существует отдельная таблица пороговых значений для каждого локуса и каждого сочетания зондов.
- Эти таблицы пороговых значений зависят от конкретной партии; убедитесь, что номер партии в таблицах пороговых значений совпадает с номером партии в наборе для набора текста.
- Если нормализованное значение для конкретного зонда выше максимального порога для отрицательного определения и ниже минимального значения для положительного определения, образец следует считать неопределенным для этого зонда. Пробу следует типировать, сначала предполагая, что значение отрицательное, а затем снова предполагая, что значение положительное.
- Дополнительную информацию о пороговых значениях см. в разделе ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется проводить по одному отрицательному и положительному контролю с каждым тестом, таким как пробирка для воды и предварительно набранный образец соответственно. Консенсусные SSO-зонды, перечисленные в Таблице порогов, гибридизуются с соответствующими аллелями, специфичными для их локуса.

Значения, полученные с помощью согласованных SSO от положительных контролей, должны превышать пороговое значение для SSO, указанное в Таблице пороговых значений. Значения, полученные с помощью согласованных SSO из водных заготовок, должны быть ниже порогового значения для SSO, указанного в Таблице пороговых значений.

Набор(ы) пробников LIFECODES содержит один или несколько согласованных пробников единого входа, определенных в рабочих листах набора для набора текста. Эти консенсусные зонды гибридизуются со всеми аллелями и действуют как внутренний контроль для проверки амплификации и подтверждения того, что гибридизация произошла. Если минимальное значение для этих SSO не получено, образец может не дать правильного набора текста, и тест образца следует повторить.

Анализ следует проводить в соответствии с рекомендациями на упаковке, а также с любыми другими процедурами контроля качества, которые соответствуют местным, государственным, федеральным требованиям и/или требованиям аккредитационных агентств.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Описанные условия ПЦР и анализа требуют точно контролируемых условий. Отклонения от этих параметров могут привести к выходу продукта из строя.

- Все приборы должны быть откалиброваны в соответствии с рекомендациями производителя и эксплуатироваться в пределах предписанных производителем параметров.
- 1) Перед использованием шарики должны быть предварительно разогреты и хорошо подвешены. Это гарантирует, что компоненты гибридизационного буфера находятся в растворе.
 - 2) Инкубации при 47°C и 56°C требуют высокой степени точности (+/- 0,5°C). Следует использовать термоциклер. Температуру следует проверять в пределах отверстий 96-луночной пластины термоциклера с помощью термопары (например, Bio-Rad, модель VPT-0300 или эквивалент). Температура внутри скважин и между скважинами не должна изменяться более чем на +/- 0,5°C.
 - 3) Время при температуре 56°C является критическим и не должно превышать в общей сложности 13 минут. Это включает в себя 8-минутную инкубацию плюс не более 5 минут на разбавление всех образцов разбавляющим раствором / смесью SA-PE.
 - 4) После разбавления образцы остаются стабильными при комнатной температуре (от 18 до 30°C) в течение 2 часов (защищать от света). Поскольку на прохождение полного 96-луночного планшета через прибор Luminex 100, Luminex 200 или Luminex FLEXMAP 3D может потребоваться до 1,5 часов, анализ следует начинать не более чем через 30 минут после разведения, чтобы гарантировать, что последний образец проанализирован в течение 2-часового срока.
 - 5) Не смешивайте компоненты из других наборов и партий.
 - 6) SSO имеет ограничения в отношении разрешения неоднозначностей, поскольку олигонуклеотидные зонды, используемые в SSO, могут опрашивать образец ДНК только в одной области, тогда как SSP может опрашивать образец ДНК в двух областях, а секвенирование может опрашивать целые экзонные последовательности. Это основное ограничение метода единого входа, которое хорошо понимают специалисты по HLA.

Из-за сложного характера типирования HLA квалифицированный персонал должен ознакомиться с заданиями по интерпретации данных и набору текста.

УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

ПРОБЛЕМА	ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА		РЕШЕНИЕ
Низкое количество шариков	Пробная смесь плохо взвешена		Предварительно разогрейте, обработайте ультразвуком и вихревым зондом смесь и повторите анализ.
	Прибор не функционирует должным образом	Вышла из калибровки	Калибровка прибора. (См. руководство пользователя Luminex.)
		Путь потока пробы заблокирован	Извлеките иглу и обработайте ее ультразвуком. Выполните обратную промывку. Если проблема не устранена, обратитесь в компанию Immucor GTI Diagnostics, Inc. (855) 466-8267
Сбой порога CON	Образец не удалось усилить или усилен плохо*	Низкий уровень ДНК	Проверьте концентрацию и чистоту ДНК.
		Соли в основной смеси вышли из раствора	Разогрейте основную смесь при температуре 37°C в течение 5 минут, слегка взбейте и слегка отжмите.
		Плохая Taq-полимераза	Используйте проверенную полимеразу LIFECODES Taq Кат. № 628075.
	Условия усиления не в пределах определенных параметров		Запустите тепловой профиль на термоциклере, чтобы убедиться, что параметры находятся в пределах заданных значений.
	Низкое среднее значение интенсивности флуоресценции (MFI)		Разогрейте раствор для разведения при тем-ре 45°C в течение 5 минут перед использованием и перемешайте. Хранить при комнатной температуре. Замените R-фикозеритрин, конъюгированный стрептавидином.
Множественные сбои SSO или образец не дает результата типирования HLA	Аллель-специфическая амплификация	Условия усиления не в пределах определенных параметров	Запустите тепловой профиль на термоциклере, чтобы убедиться, что параметры находятся в пределах заданных параметров.
	Образец ДНК загрязнен		Повторно выделите ДНК из образца крови.
	ДНК частично деградировала		
	Испарение на этапе гибридизации		Если не используется вся пластина, оставьте один ряд пустым с каждой стороны анализируемых образцов, чтобы обеспечить плотную герметизацию пластины.

* ПЦР-амплификацию можно проверить с помощью гель-электрофореза (см. Приложение А).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Значения обычно можно определить как положительные и отрицательные. В некоторых редких случаях значения могут быть неопределенными. Неопределенное значение" представляет собой диапазон, в котором не наблюдалось ни положительных, ни отрицательных значений. Если образец содержит неопределенные значения для определенного SSO-зонда, образец должен быть набран с этим зондом как отрицательный и снова с зондом как положительный. Могут возникнуть три случая:

1. Один из вариантов (т.е. Положительный или отрицательный) обеспечивает совпадение.
2. Оба варианта обеспечивают совпадения.
 - Образец может быть повторно проанализирован, или могут быть представлены аллели, полученные из обоих типов.
3. Ни один из вариантов не дает совпадения.
 - В этом случае, вероятно, есть другие датчики, которые были неправильно назначены. Этот образец должен быть повторно проанализирован и, возможно, повторно амплифицирован.
4. Если более двух зондов не поддаются определению, образец следует подвергнуть повторному анализу.
5. Если в результате попадания зонда не определяется тип HLA, образец следует повторно амплифицировать и повторно проанализировать. Также может потребоваться повторная изоляция ДНК из образца, повторная амплификация и повторный анализ.
6. Как отмечено в разделе **"Ограничения процедуры"**, крайне важно точно следовать протоколу. Любые отклонения могут привести к сбою набора образца.

ОСОБЫЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когда наборы для типирования LIFECODES HLA SSO используются в соответствии с процедурой, описанной во вкладыше продукта, можно определить тип ДНК HLA класса I и класса II.

ТОЧНОСТЬ

Набор HLA A (номер по каталогу 628911) показывает 98,46% согласие для аллелей HLA A (95,24% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования в 2 Набор HLA A eRes (номер по каталогу 628913) показывает 98,46% согласия для аллелей HLA A (95,24% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования в 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA B (номер по каталогу 628915) показывает 99,23% согласие для аллелей HLA B (96,40% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования на 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA B eRes (номер по каталогу 628917) показывает 99,23% согласие для аллелей HLA B (96,40% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования на 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA C eRes (номер по каталогу 628921) показывает 99,23% согласие для аллелей HLA C (96,40% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования в 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA DRB1 (номер по каталогу 628923) показывает 98,46% согласие для аллелей HLA DRB1 (95,24% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования на 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA DRB1 eRes (номер по каталогу 628925) показывает 98,46% согласия для аллелей HLA DRB1 (95,24% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования в 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA DRB 3, 4, 5 (номер по каталогу 628927) показывает 100% согласие для аллелей HLA DRB 3, 4, 5 (97,72% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования на 2 полях в 130 хорошо охарактеризованных образцах.

Набор HLA-DQA1/B1 (номер по каталогу 628930) показывает 99,2% согласие для аллелей DQA (96,2% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) и 98,4% согласие для аллелей DQB (95,2% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении результатов HLA-типирования на 2 полях в 123 и 128 хорошо охарактеризованных образцах, соответственно.

Набор HLA-DPA1/B1 (номер по каталогу 628936) показывает 100% согласие для аллелей DPA (97,8% нижняя граница при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) и 98,2% нижняя граница при сравнении результатов HLA-типирования в двух полях, соответственно.

95% доверительного интервала) и 98,5% согласия для аллелей DPB (95,4% нижней границы при использовании одностороннего точного метода при 95% доверительном интервале) при сравнении HLA-аллелей.

при сравнении результатов HLA-типирования в 2 полях в 133 и 135 хорошо охарактеризованных образцах, соответственно.

ТОЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Воспроизводимость

Три оператора, используя три партии HLA-B и HLA-DRB1, протестировали 16 образцов в двух экземплярах. Процент соответствия по операторам и по партиям варьировался от 98,9% до 100%, а процент отказов варьировался от 0% до 1,04%.

Для HLA-DQA1 B1 и HLA-DPA1/B1 операторы проводили тестирование в течение пяти дней подряд. Все тесты показали 100% соответствие с 0% отказов.

Повторяемость

Один оператор проводил тестирование в течение пяти дней подряд, используя одну партию наборов HLA-B и HLA-DRB1. Для HLA-B 100% соответствие было получено в каждый день. Процент отказов варьировался от 0% до 1,6%. Для HLA-DRB1 соответствие варьировалось от 96,8% до 100%.

Процент	отказов	варьировался	от	0%	до	4,6%.
---------	---------	--------------	----	----	----	-------

В исследовании повторяемости участвовали три лаборатории, каждая из которых тестировала двенадцать образцов на HLA-DQA1/B1 и HLA-DPA1/B1. 100% соответствие наблюдалось каждый день с каждым продуктом. Процент отказов варьировался от 0% до 3,1% для HLA-DPA1, от 0% до 2,7% для HLA-DPB1, от 0% до 0,7% для HLA-DQA1 и от 0,3% до 1% для HLA-DQB1.

ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ

Исследования предела обнаружения были проведены с десятью хорошо охарактеризованными образцами всех продуктов. Образцы тестировались в двух экземплярах для шести количеств исходной ДНК в диапазоне от ниже нижнего рекомендуемого значения 40 нг до выше верхнего рекомендуемого значения 120 нг. 95% или более совпадение наблюдалось для всех продуктов при всех концентрациях.

HLA-типирование методом SSO (Sequence Specific Oligonucleotide) осуществляется с помощью олигонуклеотидных зондов, специфичных для конкретной последовательности. Каждый олигонуклеотид SSO тестируется с известными положительно и отрицательно реагирующими аллелями для установления и обеспечения ожидаемой реактивности.

ВМЕШАТЕЛЬСТВО

В лабораторных испытаниях следующие вещества продемонстрировали некоторое ингибирование при оценке с наборами для типирования LIFECODES HLA-DQA1/B1 и LIFECODES HLA-DPA1/B1 SSO. Самая высокая концентрация мешающих веществ без ингибирования - Sodium Dodecyl Sulfate (0.005% (w/v)), Ethanol (500 mM), Phenol (0.125% (v/v)), Sucrose (0.1 M), ЭДТА (500 мкМ), ACD, (0,1% (в/в)), холестерин (3 мкг/мл), билирубин (16,4 мкМ), гемоглобин (0,0156 мг/мл) и гемолизоанная кровь (0,1% (в/в)).

ЛИТЕРАТУРА

- Олеруп, О., и Зеттерквист, Х. (1992). HLA-DR-типирование с помощью ПЦР-амплификации с последовательно-специфическими праймерами (PCR-SSP) за 2 часа: альтернатива серологическому DR-типированию в клинической практике, включая подбор донор-реципиент при трупной трансплантации. Тканевые антигены 39(5), 225–235.
- Сайки Р., Бугаван Т., Хорн Г. и соавт. (1986). Анализ ферментативно амплифицированной ДНК β-глобина и HLA-DQα с помощью аллель-специфических олигонуклеотидных зондов. Природа 324, 163–166.
- Маэда М., Мураяма Н., Исии Х. и др. (1989). Простой и быстрый метод генотипирования HLA-DQA1 путем расщепления ПЦР-амплифицированной ДНК аллель-специфичными эндонуклеазами рестрикции. Тканевые антигены 34(5):290-298.
- Бугаван Т.Л., Бегович А.Б. и Эрлих Х.А. (1990) Быстрое типирование HLA-DPB с использованием ферментативно амплифицированной ДНК и нерадиоактивных специфичных к последовательности олигонуклеотидных зондов. Иммуногенетика 32: 231–241.

ЛИЦЕНЗИЯ С ОГРАНИЧЕННЫМ СРОКОМ

Taq-полимераза производится для Immucor GTI Diagnostics компанией Promega Corp. Она лицензирована компанией Promega на основании патентов США №№ 5,338,671 и 5,587,287 и соответствующих зарубежных патентов. Покупка этого продукта включает ограниченную, непередаваемую лицензию на мультиплексный анализ клинических образцов для HLA-типирования, согласно патенту США № 5,981,180 или его зарубежным аналогам, принадлежащим корпорации Luminex.

ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

Информация о производителе: Immucor Медицинская диагностика ООО, Роберт-Бош-Штрассе, 32, 63303 Драйайх, Германия
Телефон: +49 (0) 6103 80560, факс: +49 (0) 6103 8056199

Контактная информация технической поддержки:

США: Lifecodestechsupport@immucor.com

Международная: Tech.support.int.transplant@immucor.com

Данный документ был пересмотрен и выпущен в последний раз: 2021-11-22

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

AB Gene®	AB Gene House	Luminex®	Luminex Corporation
Costar®	Corning Incorporated	FLEXMAP 3D®	Luminex Corporation
Microseal™	Bio-Rad Laboratories, Inc.	Gene Amp®	Roche Molecular System
IDNA™ Agarose	Lonza Group, Ltd.	Veriti™	Applied Biosystem
GelStar™	Lonza Group, Ltd.	LIFECODES®	Immucor Inc.



ПРИЛОЖЕНИЕ А

Гель-электрофорез

Реакции ПЦР, проводимые в наборах для типирования LIFECODES HLA-SSO, предназначены для получения как двух-, так и одноцепочечных продуктов, которые являются преобладающими продуктами, гибридизирующимися с SSO. Для обеспечения качества или для устранения неполадок в эксперименте может потребоваться проведение гель-электрофореза для исследования реакции ПЦР на наличие амплифицированной ДНК.

Требуемые материалы (как указано или эквивалентно)

- Агароза для электрофореза (Lonza Group, Ltd. Агароза IDNA® № 50170)
- Аппарат для электрофореза/блок питания
- 1X гель-буфер (40xTAE, Promega № V4281)
- Гелевое пятно на основе нуклеиновых кислот GelStar® (Lonza Group, Ltd. № 50535)
- УФ-трансиллюминатор (ChromatoVUE, UVP Inc. Модель TM36)
- Фотографическая система визуализации

Относительная миграция одноцепочечного продукта зависит от концентрации геля и используемой буферной системы. Ниже приведены приблизительные значения миграции для каждой амплификации для образцов, полученных в 2% агарозном геле в 1X TAE буфере.

Условия электрофореза

Примечание: Не применимо для HLA-DQA1/B1 (часть № 628930), HLA-DRB 3,4,5 (часть № 628927) и HLA-DPA1/B1 (часть № 628936), поскольку отдельные полосы невозможно различить в комбинированном мультиплексе.

- Удалите пятно от нуклеиновой кислоты GelStar® (Lonza Group, Ltd. № 50535) из морозильной камеры для размораживания. Хранить в темноте.
- Гель, используемый для этой процедуры, должен быть 2%, т.е. для 200 мл слоя геля используйте 4 грамма агарозы на 200 мл 1X TAE (разбавьте от 40X TAE). Добавьте 10 мкл красителя для нуклеиновых кислот GelStar® в расплавленную агарозу. При заливке геля обязательно оставляйте достаточно места для прохождения ДНК на значительное расстояние (от 1 до 2 дюймов). БУДЬТЕ ОСТОРОЖНЫ: GelStar® является потенциальным канцерогеном. ПРИМЕЧАНИЕ: Вместо окрашивания нуклеиновой кислотой GelStar® можно использовать гели с 20 мкл бромида этидия 10 мг/мл. Интенсивность полосы продукта будет меньше в гелях, содержащих бромистый этидий, чем в гелях, содержащих GelStar®. СОБЛЮДАЙТЕ ОСТОРОЖНОСТЬ: Бромид этидия является известным канцерогеном.
- Храните гель в темном месте и дайте ему застыть.
- Загрузите смесь из 2,5 мкл каждого продукта ПЦР и 2,5 мкл 2-кратного загрузочного буфера с видимым красителем на образец для амплификации. Дайте гелю поработать в темноте при напряжении примерно 160 вольт в течение 45 минут или до тех пор, пока образец не отойдет достаточно далеко, чтобы можно было увидеть отдельные полосы для одно- и двухцепочечного продукта (полоса бромфенолово-синего цвета или другой видимый маркер мигрирует на 1-2 дюйма от лунок).
- Сфотографируйте с помощью УФ-трансиллюминатора в сопровождении желтого фотографического фильтра GelStar® (Lonza Group, Ltd. № 50536). осторожность: Надевайте защитные средства при работе с пятном от нуклеиновой кислоты GelStar® или бромистым этидием, а также при фотографировании геля с помощью УФ-трансиллюминатора.
- Анализ геля:

	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1
Двойная(ые) нить(и) (bp)	~420	~370, ~340	~476, ~447	~280
Одиночная нить (нити)(bp)	~240	~200	~250, ~200	~180

Интерпретация геля

Хорошо

Усиление

Отсутствие усиления

Двухцепочечная ДНК

----- (Яркий)

----- (Менее яркий)

Одноцепочечная ДНК

Грунтовка

Документация по продукту доступна по адресу: www.immucor.com

ПАСПОРТ НА ПРОДУКЦИЮ

Стрептавидин-PE (SAPE) GPR - реагент общего назначения для лабораторного использования

Реагент	Номер продукта	Объем заполнения	Хранилище	CE
Стрептавидин-ПЭ	628511	85 мкл	от 2 до 8°C	

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИМВОЛОВ (этикетки продуктов и дополнительные документы)

Большое число		Номер каталога		Температур ные ограничени я		Верхний предел температур ы	
Срок действия		Реагент общего назначения для лабораторного использования		Производитель		Не замор ажива ть	
<u>Уникальный</u> Идентифика ция устройства		<u>Импортёр</u>		<u>Авторизованный</u> Представитель в Европейском Сообществе			
							

Стрептавидин-PE (SAPE) является дополнительным необходимым реагентом, который состоит из конъюгата R-фикоэритрина со стрептавидином, который действует как флуоресцентная репортерная молекула, со следующими качественными ручными продуктами, указанными ниже:

Наборы для печати LIFECODES HLA-AeRES SSO (628913) Наборы для печати LIFECODES HLA-BeRES SSO (628917) Наборы для печати LIFECODES HLA-CeRES SSO (628921) Наборы для печати LIFECODES HLA-DRB1eRES SSO (628925) Наборы для печати LIFECODES HLA-DRB3,4,5 SSO Наборы (628927) Наборы для печати LIFECODES HLA-DQA1/B1 SSO (628930) Наборы для печати LIFECODES HLA-DPA1/B1 SSO (628936)

Принцип:

Стрептавидин нековалентно связывается с биотином. Конъюгированный с флуоресцентным красителем, таким как фикоэритрин, его можно использовать для обнаружения биотинилированных белков и нуклеиновых кислот.

Характеристики:

Поглощение 568 ± Максимальное излучение флуоресценции 5 нм 575 ± 5 нм
Квантовый выход (относительно родамина 504) ≥ 2,0. Очистка или обработка, необходимые для использования: нет.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

SA-PE содержит опасные соединения. Избегайте контакта с кожей и глазами и утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местными правилами. Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности.

Инструкции по хранению: Хранить при температуре от 2 до 8°C. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности.

ПРИМЕЧАНИЕ: НЕ ЗАМЕРЗАТЬ. ЗАЩИТИТЬ ОТ СВЕТА.

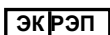
Этот документ последний раз пересматривался и издавался: 09 мая 2022 г.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

КОДЫ ЖИЗНИ® Иммукор Инк.



Immucor GTI Diagnostics,
Inc. 20925 Круг
перекрестка Вокеша,
Висконсин 53186 США



Иммукор Медицинский Диагност ГмбХ
Роберт-Бош-Штрассе
3263303 Драйейх
Германия

Документация по продукту и переводы доступны по адресу: WWW.IMMUCOR.COM

ПАСПОРТ НА ПРОДУКЦИЮ

Обнаружение LIFECODES® C3d

Для использования в диагностике в лабораторных условиях.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Определение символов.....	1	Сбор и подготовка образцов.....	2
Использование по назначению.....	1	Инструкция по применению.....	3
Резюме и объяснение.....	1	Полученные результаты.....	4
Принципы процедуры.....	1	Контроль качества.....	4
Предоставляемые реагенты.....	2	Ограничение процедуры.....	4
A. Идентификация и условия хранения....	2	Исправление проблем.....	5
B. Предупреждения или предостережения.....	2	Конкретные рабочие характеристики.....	5
C. Очистка или обработка для использования.....	2	Использованная литература.....	5
D. Признаки нестабильности.....	2	Производитель и уполномоченный	
Необходимые, но не предоставленные материалы.....	2	Представитель.....	5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИМВОЛОВ

(Ярлык продукта)	песок добавки	тальные документы)					
Код партии		Номер каталога		Использовать до		Диапазон температур (хранение)	
Производитель		Светочувствительный (Беречь от света)		Температура (хранение)		Достаточно для N тестов	
Уполномоченный представитель в Европе Сообщество		Предупреждение					

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

LIFECODES® C3d Detection — это качественный анализ для обнаружения комплемента, связанного с комплексом антитело/антиген в сыворотке крови человека.

РЕЗЮМЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Этот продукт предназначен для обнаружения комплемента C3d, связанного с комплексом антитело/антиген. Этот продукт содержит РЕ-конъюгированное антитело против C3d человека, гранулы положительного контроля, человеческую сыворотку, содержащую комплемент, и промывочный буфер.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРЫ

Аликвоту антигенов HLA, связанных с гранулами, инкубируют с небольшим объемом образца тестируемой сыворотки. После этой первоначальной инкубации добавляют отрицательный сывороточный реагент в качестве источника комплемента для дополнительной инкубации. Затем сенсibilизированные шарики промывают для удаления несвязавшегося антитела. Затем добавляют антитело против C3d человека, конъюгированное с фикоэритрином. После очередной инкубации испытуемый образец промывают, разбавляют и анализируют на приборе Luminex. Интенсивность сигнала от каждой гранулы для тестируемого образца сравнивают с интенсивностью сигнала отрицательной контрольной сыворотки, чтобы определить, следует ли считать образец положительным или отрицательным в отношении C3d, связанного с комплексом антитело/антиген.

РЕАГЕНТЫ ПРИ УСЛОВИИ

A. Идентификация и условия хранения C3d Detection Номер продукта 265400

1. **C3dCJ** C3d конъюгат(P/N 265410; 1200 мкл). РЕ-конъюгированное антитело против C3d человека в готовом к использованию буфере для хранения на фосфатной основе, содержащем NaCl, Tween-20 и азид натрия. СВЕТООЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Беречь от прямого света в течение длительных периодов времени. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте до 3 месяцев или при температуре ≤ -65°C до истечения срока годности. Его можно повторно заморозить до 6 раз при ≤ -65°C после первого оттаивания.
2. **C3dCS** Дополняющая сыворотка(P/N 265415; 2 флакона по 360 мкл). Сыворотка от не перелитого донора мужского пола. Магазин в ≤ -65°C. Его можно повторно замораживать до 4 раз после первоначального оттаивания.
3. **C3dPCB** C3d положительная контрольная бусина(P/N 265405; 24 мкл). Буфер для хранения представляет собой буфер на фосфатной основе, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий белок. СВЕТООЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Хранить при ≤ -65°C. Его можно повторно заморозить до 6 раз после начальной оттепели.
4. **LMWB** Промывочный буфер(P/N 628221; 30 мл): буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Магазин от 2 до 8°C и уравнивают до комнатной температуры (от 20 до 24°C) перед употреблением.

B. Предупреждения или предостережения

1. Для использования в диагностике в лабораторных условиях.
2. Исходный человеческий материал, использованный при производстве этого набора, был протестирован и признан отрицательным на антитела к ВИЧ, ВГС и HBsAg методами, одобренными FDA. Однако ни один метод тестирования не может дать полной гарантии того, что инфекционный агент отсутствует. Поэтому при работе с этими материалами используйте универсальные меры предосторожности.
3. Реагенты содержат 0,1% азида натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием взрывоопасных азидов металлов. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.
4. Бактериальное заражение образцов или присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулинов может вызвать повышенное неспецифическое связывание и ошибочные результаты.
5. Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местным законодательством.
6. Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности.
7. Комплемент Сыворотки, оставленные при температуре от 2 до 8°C в течение продолжительных периодов времени, демонстрируют пониженную активность комплемента.
8. Бусины и конъюгат СВЕТООЧУВСТВИТЕЛЬНЫ. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше.

C. Очистка или обработка, необходимая для использования

1. См. «Сбор и подготовка образцов».
2. Все компоненты готовы к использованию и не требуют разбавления.

D. Признаки нестабильности

1. Не используйте компоненты или элементы управления, которые мутные или с истекшим сроком годности.

МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ И ОБОРУДОВАНИЕ Требуемые, но НЕПРИ УСЛОВИИ

- Комплекты LIFECODES LSA Class I (P/N 265100, LSA1) или LIFECODES LSA Class II (P/N 265200, LSA2).
- Оборудование, необходимое для выполнения анализа LIFECODES LSA класса I или класса II (см. соответствующий вкладыш к продукту, LC1683CEEN) или Luminex FLEXMAP 3D (номер продукта LIFECODES 888303).
- Комплекты для калибровки FLEXMAP 3D (набор для калибровки Luminex FLEXMAP 3D, комплект для проверки производительности Luminex FLEXMAP 3D, коды Lifecodes № по каталогу 888307 и 888308 соответственно).

СБОР ОБРАЗЦОВ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ СЫВОРОТКИ

Кровь следует собирать без антикоагулянта, используя асептическую технику, и ее следует анализировать, пока она еще свежая или хранится надлежащим образом, чтобы свести к минимуму вероятность ложноположительных или ложноотрицательных реакций из-за неправильного хранения или загрязнения образца. Сыворотку следует хранить при температуре от 2 до 8°C до 48 часов. Если сыворотку необходимо хранить более 48 часов, ее следует заморозить при температуре -20°C или -80°C или ниже на срок до 2 лет.

Отдельные лаборатории должны разработать и утвердить методы хранения сыворотки более 2 лет. Сыворотка должна быть отделена от эритроцитов при хранении или транспортировке. Избегайте многократного замораживания и оттаивания образцов сыворотки.

ВНИМАНИЕ: Не используйте микробиологически загрязненную, гемолизированную или липемическую сыворотку, так как эти

Перед анализом все образцы следует встряхнуть и центрифугировать в течение короткого времени (30 секунд при ~10 000xg) для осаждения любых твердых частиц, которые могут присутствовать.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:

- НЕОБХОДИМО соблюдать осторожность, чтобы избежать загрязнения промывочного буфера и реагента против человеческого C3d. Непреднамеренное заражение этих реагентов человеческой сывороткой впоследствии может привести к провалу теста.
 - Образец сыворотки положительного и отрицательного контроля должен быть включен в каждый тест, чтобы помочь определить, произошла ли техническая ошибка или некачественный реагент.
 - Сыворотка комплемента представляет собой отрицательный реагент сыворотки, необходимый для анализа обнаружения C3d в качестве стандартного источника комплемента.
 - Кроме того, соблюдайте общие меры предосторожности, описанные во вкладыше к продукту LIFECODES LSA (LC1683CEEN).
1. Включите прибор Luminex, чтобы он прогрелся в течение 30 минут.
 2. Достаньте смесь шариков LSA, гранулы положительного контроля C3d (C3dPCB), комплементарную сыворотку C3d (C3dCS) и конъюгат C3d (C3dCJ) из морозильной камеры -65°C и храните в темноте при комнатной температуре до оттаивания. После оттаивания немедленно поместите на лед и защитите от света.
 3. Доведите промывочный буфер до комнатной температуры (от 20 до 24°C) перед использованием. В это время используйте лист формата планшета (LC979), чтобы назначить положение на планшете для каждой сыворотки и контролей, подлежащих анализу. В качестве отрицательного контроля используется сыворотка отрицательного контроля (поставляется с наборами LSA1 и LSA2).
 4. Накройте неназначенные лунки фильтрующей пластины клейкой пластиковой крышкой. Предварительно смочите лунки 100-300 мкл дистиллированной воды. Через 2-5 минут удалите воду осторожной аспирацией с помощью вакуумного коллектора. (См. рекомендации производителя по правильному использованию).
 5. Подготовьте шарики LSA, кратковременно (30 секунд) центрифугируя флакон при ~ 600–800 g, чтобы удалить любые шарики или жидкость с крышки или стенок флакона. Тщательно вортекс (~ 1 минута), чтобы равномерно ресуспендировать бисер. В отдельном флаконе объедините 1 мкл/образец C3dPCB с соответствующим объемом шариков LSA (40 мкл/образец). Тщательно вортекс (~ 1 минута), чтобы равномерно ресуспендировать бисер.
 6. Добавьте 40 мкл смеси шариков LSA с C3dPCB в каждую из назначенных лунок. Повторно встряхивайте флакон с гранулами LSA каждые 2 минуты, чтобы поддерживать гранулы во взвешенном состоянии при их распределении. Затем центрифугируйте сыворотку (30 секунд при ~ 10 000 xg) и добавьте 10 мкл сыворотки или контрольной сыворотки и перемешайте.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Важно держать гранулы ресуспендированными, чтобы обеспечить достаточное количество гранул в аликвотах в лунки и обеспечить малое время подсчета гранул. Отсутствие периодического встряхивания шариков приведет к тому, что шарики осядут на дно пробирки. Это приведет к тому, что в лунки будет распределяться различное количество

7. Накройте пластину клейкой пластиковой крышкой, затем фольгой или коробкой для защиты от света. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20-24°C) в темноте на вращающейся платформе (200 оборотов в минуту). Верните неиспользованные порции контрольной сыворотки на хранение при температуре от 2 до 8°C для использования в будущем. Верните неиспользованные части LSA Bead Mix и C3dPCB на хранение при температуре ≤-65°C в темноте для использования в будущем.
8. После 30-минутной инкубации снимите клейкую пластиковую крышку и добавьте 30 мкл C3dCS в каждую лунку, включая лунку с отрицательным контролем. Верните C3dCS на хранение при температуре ≤-65°C сразу после использования. Накройте тарелку фольгой или коробкой для защиты от света. Поместите на вращающуюся платформу (со скоростью 200 оборотов в минуту) или осторожно встряхивайте каждые 5-10 минут. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (от 20 до 24°C).
9. После 30-минутной инкубации снимите клейкую пластиковую крышку и добавьте в каждую лунку по 100 мкл промывочного буфера. Перемешать, постукивая по стенке планшета, и осторожно аспирировать планшет.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Использование чрезмерной силы вакуума приведет к прилипанию шариков к мембране, что может привести к повреждению образца. Примените минимальное вакуумметрическое давление, необходимое для аспирации.

10. Добавьте 250 мкл промывочного буфера в каждую лунку, аспирируйте и повторите еще три раза.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Отсутствие полной промывки может снизить способность конъюгата обнаруживать C3d, связанный с комплексом антитело/антиген, и вызвать ложноотрицательный результат. полученные результаты.

11. Центрифуга C3dCJ в течение 30 секунд в микроцентрифуге (~ 600 - 800 xg). C3dCJ готов к использованию и не требует разбавления. Добавьте 50 мкл C3dCJ в каждую лунку. Храните оставшийся C3dCJ при температуре 4°C до трех месяцев или храните его при температуре ≤-65°C до истечения срока годности.
12. Накройте тарелку фольгой или коробкой для защиты от света. Поместите на вращающуюся платформу (со скоростью 200 оборотов в минуту) или осторожно встряхивайте каждые 5-10 минут. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (от 20 до 24°C).
13. После 30-минутной инкубации снимите клейкую пластиковую крышку и добавьте в каждую лунку по 100 мкл промывочного буфера. Перемешать, постукивая по стенке планшета, и осторожно аспирировать планшет.
14. Добавьте 250 мкл промывочного буфера в каждую лунку и выполните аспирацию.
15. Используя чистый наконечник пипетки, добавьте 200 мкл промывочного буфера в каждую лунку и перемешайте, чтобы ресуспендировать гранулы.
16. Соберите данные с помощью прибора Luminex, используя рекомендации производителя, и используйте шаблон Luminex C3d (см. LIFECODES LSA для получения информации о конкретной партии). Задержки более чем на 3 часа при комнатной температуре могут увеличить вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций. Верните неиспользованную часть промывочного буфера на хранение при температуре от 2 до 8°C для использования в будущем.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Обнаружение C3d: Чтобы проанализировать результаты для партии образцов:

1. Создайте рабочий лист в Excel, открыв копию выходного файла CSV с результатами пакета Luminex и «Сохранить как» файл Excel. Этот файл будет использоваться для расчетов, используемых для анализа результатов.
2. Из рабочего листа записи для конкретной партии, прилагаемого к набору LSA, скопируйте название антигена, соответствующего каждой грануле.
3. Затем вычитайте значения MFI сыворотки отрицательного контроля (MFI сыворотки NC) из RAW MFI для каждого отдельного шарика, чтобы рассчитать MFI с поправкой на фон (с поправкой на BG).

(a) BG Скорректированный MFI = MFI образца – MFI сыворотки NC

4. Затем разделите MFI с поправкой на ГК на MFI расчетного контроля (CalcCON) соответствующего локуса, чтобы получить коэффициент с поправкой на фон (BCR-Neg). CalcCON для каждого локуса представляет собой необработанное значение MFI гранулы антигена с самым низким рангом для этого локуса.

**(b) BCR-отрицательный знак равно BG Скорректированный MFI антигена
Самый низкий исходный показатель MFI локуса**

5. Наконец, разделите MFI антигена с поправкой на BG на соответствующее значение MFI антигена для сыворотки отрицательного контроля LSA (NC), чтобы получить относительную силу (R-Strength).

**(c) R-сила = скорректированный по ГК MFI_антигена_
Исходное значение MFI антигена**

Граница считается положительной, если два или более скорректированных значения превышают пороговые значения. См. Сертификат анализа продукта C3d Detection (265400) для получения информации о положительных и отрицательных пороговых значениях по умолчанию. Регулируя отсечку, можно получить более высокую или более низкую чувствительность.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества C3d Detection встроен в тест-систему путем включения позитивной контрольной бусины и положительной и отрицательной контрольной сыворотки (поставляется с наборами LSA1 и LSA2). Эти элементы управления должны быть включены в каждый запуск теста, чтобы помочь определить, произошли ли технические ошибки или сбои реагентов. Сыворотка положительного контроля будет реагировать с рядом гранул, конъюгированных с LSA, создавая картину, аналогичную той, что обнаружена на графике обнаружения C3d. Сыворотка отрицательного контроля будет реагировать с небольшим количеством шариков, конъюгированных с LSA, если таковые имеются.

Бусина положительного контроля C3d должна давать значения MFI $\geq 10\,000$ при анализе с использованием сыворотки отрицательного контроля. Значения образца ниже $10\,000$ MFI могут указывать на то, что было добавлено недостаточно C3dCJ, анализ может быть плохо промыт или C3dCJ может быть скомпрометирован.

Количество шариков должно быть не менее 40 событий.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Ошибочные результаты могут быть вызваны бактериальным загрязнением тестовых материалов, неадекватным периодом инкубации, неадекватной промывкой или декантацией гранул, воздействием рассеянного света на C3dCJ или пропуском тестовых реагентов или этапов.

Присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулинов в образце сыворотки может вызвать повышенное неспецифическое связывание и привести к ошибочным результатам этого анализа.

Титры сывороточных антител зависят от образца и момента времени. Если многие гранулы дают значения MFI выше $15\,000$, может потребоваться разведение сыворотки.

Из-за сложного характера тестирования HLA и множества факторов, которые могут повлиять на каскад комплемента, ведущий к образованию C3d, квалифицированный персонал должен анализировать и интерпретировать результаты. Использование любых контрольных сывороток и пороговых значений, отличных от указанных в сертификате анализа, не было подтверждено.

Этот тест не должен использоваться в качестве единственной основы для принятия клинических решений.

ИСПРАВЛЕНИЕ ПРОБЛЕМ

(См. также листок-вкладыш LIFECODES LSA Class I и Class II LC1683CEEN).

ПРОБЛЕМА	ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА	РЕШЕНИЕ
Низкое количество шариков только для C3dPCB	Недостаточное количество гранул добавлено в смесь LSA Bead Mix	Импульсный вихрь полностью ресуспендировать, избегайте пипетирования <3 мкл, используйте калиброванные пипетки
	Сбои прибора - вне калибровки	См. руководство Lumiplex.
	Фотоотбеленные бусины	Используйте новый флакон C3dPCB
C3d Значения MFI положительного контроля с сывороткой <10 000 MFI	Фотообесцвеченный или недостаточный C3dCJ добавлен в реакцию	Повторите анализ. Используйте новый флакон C3dCJ
	Плохая стирка	Повторите анализ и промывки монитора
Низкий MFI для положительной контрольной сыворотки	Добавлен неправильный образец	Повторите анализ с правильным контрольным образцом
	В реакцию добавлено недостаточное количество C3dCJ	Повторите анализ с правильным количеством C3dCJ.
	Недостаточно C3dCS или он не был добавлен в реакцию	Повторите анализ, добавив C3dCS
	Низкая температура анализа	Убедитесь, что анализ проводится при температуре 20–24 °C. Попробуйте верхний предел температурного диапазона для более высокого MFI.
Аномальный образец сыворотки положительного контроля	Добавлен неправильный образец	Повторите анализ с правильным контрольным образцом
	Плохая стирка	Повторите анализ и промывки монитора
Высокий MFI для отрицательной контрольной сыворотки (>1500 MFI)	Плохая стирка	Повторите анализ и контролируйте промывки, чтобы убедиться, что гранулы повторно суспендированы во время промывки.
		Уменьшить силу вакуума

ОСОБЫЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когда LIFECODES C3d Detection используется в соответствии с процедурой, описанной выше, результаты показывают наличие или отсутствие комплемента, связанного с комплексом антитело/антиген.

Сравнительное исследование с использованием 142 образцов было проведено между LIFECODES C3d Detection и Complement Dependent Cytotoxicity (CDC). Для этого набора образцов чувствительность LIFECODES C3d Detection была лучше, чем тест CDC для обнаружения комплементсвязывающего HLA-антитела в положительных образцах сыворотки, как было измерено анализами LIFECODES LSA класса I и класса II.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Сикард, А. и др. Обнаружение C3d-связывающих донор-специфических анти-HLA-антител при диагностике гуморального отторжения позволяет прогнозировать потерю почечного трансплантата. J Am Soc Nephrol, 2015; 26(2):457-467.
2. Томас, К.А. и соавт. Моноклональное антитело против C1s, TNT003, ингибирует активацию комплемента, индуцированную антителами против HLA. Ам Джей Трансплант. 2015 г.; 15(8): 2037-2049.
3. Мюллер, ТФ; Оберкофлер К.Е. и Клавиев П.А. Что нового и нового в ЦМТ — Клиническая наука. Ам Джей Трансплант. 2015 г.; 15(2):327-332.
4. Лан, Дж. и др. Клиническая значимость C3d-связывающих донор-специфических антител при поздней недостаточности почечного аллотрансплантата. Ам Джей Трансплант. 2015 г.; 15 (C3).
5. Лан, Дж. и др. Донор-специфические HLA-антитела, связывающие комплемент, обнаруженные с помощью нового анализа C3d, связаны с опосредованным антителами отторжением у реципиентов трансплантата сердца. Журнал трансплантации сердца и легких, 2015 г.; 34(4): S130.
6. Toutirais, O. et al. Клинический исход у реципиентов трансплантата сердца с комплементсвязывающими донорскими специфическими антителами. Тканевые антигены. 2015 г.; 85(5): 431.
7. Дюбуа В. и соавт. Беременность и опосредованное донорскими антителами к HLA гуморальное отторжение у молодых женщин после трансплантации печени: «опасные связи»? Тканевые антигены. 2015 г.; 85(5): 306.
8. Варманн, М. и др. Модифицированное обнаружение аллоантител в твердой фазе для улучшенного предсказания перекрестной совместимости. Иммунол человека, 2013 г.; 74(1): 32–40.
9. Сакс С.Х. и Чжоу В. Роль комплемента в раннем иммунном ответе на трансплантацию. Nature Rev Immunol, 2012; 12(6): 431-442.
10. Гирей, Б.; Горницкая, Б.; Васютинский, А. Роль фрагментов комплемента C3d и C4d в диагностике острого отторжения аллотрансплантата после трансплантации. Энн Трансплант, 2009 г.; 14(4): 61-70.
11. Родригес, Э.Р. и соавт. Опосредованное антителами отторжение в аллотрансплантатах сердца человека: оценка иммуноглобулинов и продуктов активации комплемента C4d и C3d в качестве маркеров. Am J Transplant, 2005; 5(11): 2778–2785.

АВТОРИЗОВАННЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ

Авторизованный представитель: Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Strasse 32, 63303 Dreieich, Германия

Европейская техническая служба: +32/3 385 47 91



Выпущено: 2020-01-15

ПАСПОРТ НА ПРОДУКЦИЮ

LIFECODES LSA™ Класс I: Люминекс®Скрининговый анализ для качественного обнаружения антител IgG к молекулам HLA I класса.

LIFECODES LSA™ Класс II: Люминекс®Скрининговый анализ для качественного обнаружения антител IgG к молекулам HLA класса II.

Для диагностики *in vitro*

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

Определение	1	Процедура	3
символов	2	Предоставленные материалы	3
Использование по назначению	2	Необходимые, но не предоставленные материалы	4
Резюме и пояснения	2	Инструкция по применению	5
Принципы процедуры	2	Полученные результаты	6
Реагенты	3	Контроль качества	6
А. Идентификация	3	Ограничение процедуры	6
Предупреждения и предостережения	3	Исправление проблем	6
Инструкции по хранению	3	Удельные рабочие характеристики	
Очистка или обработка для использования		Использованная литература	
Признаки нестабильности		Авторизованный представитель	
Требования к прибору			
Сбор и подготовка образцов			

ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИМВОЛОВ

(Этикетки)

Код партии	LOT	№ по каталогу	REF	Использовать до		Диапазон температур (хранение)	
Образец	SAMPLE	Производитель		MFI Порог	MFI TH	Температура (хранение)	
Разбавьте перед использованием	DIL	Держать вдали от света		Достаточно для N тестов		Обратитесь к инструкции по использованию	
Имя пациента	NAME	ID номер	ID#	Дата	DATE	Технарь	TECH
Гранула	BEAD	Класс I	CI	Класс II	CI II	Отсечка	CUT-OFF
Фон	BKG	Антиген	AG	Средняя интенсивность флуоресценции	MFI	Интерпретация	INTERP
Отрицательная контрольная гранула	NC	Гранула положительного контроля (иммуноглобулин G)	PC	Дата кровотечения	BDT	Антиген ID	ANTIGEN ID
Антиген с самым низким рейтингом	LRA	MFI / Антиген с самым низким рейтингом	MFI/LRA	Предупреждение		Наблюдаемые пределы	OBSERVED LIMITS
Относительная плотность антигена	RAD	Серологический эквивалент	SERO	In Vitro Диагн.мед.устройство	IVD	Уполномоченный представитель в Европе Сообщество	EC REP

Ключ: Подчеркивание = Добавление или существенное изменение; ▲ = Удаление текста

Стр 1 из 6

LC1683CEEN Ред. E



НАЗНАЧЕНИЕ

LIFECODES LSA™ Class I и Class II — это иммуноанализы на основе шариков, используемые для качественного выявления антител HLA IgG.

РЕЗЮМЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Человеческие лейкоцитарные антигены (HLA) представляют собой систему гликопротеинов, которые играют функциональную роль в презентации пептидов иммунной системе. 1,2 Однако, будучи высокополиморфной системой, молекулы HLA могут стать мишенями гуморального ответа у людей во время беременности, переливание продуктов крови или отторжение трансплантата органа. Как правило, аллоиммунизация приводит к выработке HLA-антител примерно у 33% подвергшихся воздействию лиц. 3 Наличие или отсутствие этих HLA-специфических антител играет роль в определении выживаемости аллотрансплантатов. 4

LIFECODES LSA™ Class I Beads предназначены для обнаружения антител IgG к гликопротеинам HLA класса I. LSA класса I состоит из различных шариков Lumindex, с которыми конъюгированы очищенные рекомбинантные гликопротеины HLA класса I.

LIFECODES LSA™ Class II Beads предназначены для обнаружения антител IgG к гликопротеинам HLA класса II. LSA класса II состоит из различных шариков Lumindex, с которыми конъюгированы очищенные рекомбинантные гликопротеины HLA класса II.

ПРИНЦИПЫ ПРОЦЕДУРА

Аликвоту гранул инкубируют с небольшим объемом пробы тестируемой сыворотки. Затем сенсibilизированные шарики промывают для удаления несвязавшегося антитела. Затем добавляют антитело против человеческого IgG, конъюгированное с фикоэритрином. После очередной инкубации исследуемый образец разбавляют и анализируют на приборе Lumindex. Интенсивность сигнала от каждого шарика сравнивают с интенсивностью сигнала локус-специфического шарика с самым низким рангом, включенного в препарат шарика, чтобы определить, является ли шарик положительным или отрицательным для связанного аллоантитела.

РЕАГЕНТЫ

Удостоверение личности

265100: **LSA1** LIFECODES LSA™ Class I состоит из пяти (5) компонентов в количествах, достаточных для 24 тестов.

265103: **LSA1B** SA Смесь для гранул класса I (960 мкл): Смесь гранул, каждая из которых конъюгирована с отдельным HLA класса I.

гликопротеин плюс контрольные шарики. Буфер для хранения представляет собой буфер на фосфатной основе, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий белок. СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше. Хранить при температуре ≤ -65°C в темном месте.

265002: **LSACJ** концентрат конъюгата LSA (120 мкл): Козий античеловеческий IgG, конъюгированный с фикоэритрином в фосфат-

на основе буфера для хранения, содержащего NaCl, Tween-20 и натрийазид. ДОЛЖЕН БЫТЬ РАЗБАВЛЕН 1:10 в промывочном буфере перед использованием. ЛЕГКИЙ

ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ. Хранить вдали от прямого света в течение длительного периода времени. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.

628221: **LMWB** LIFECODES Промывочный буфер (30 мл): Буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, твин-20, азид натрия и

бычий сывороточный альбумин. Хранить при температуре от 2 до 8°C и довести до комнатной температуры (20-24°C) перед использованием.

265101: **LSAPC1** LSA Class I Положительный контроль (100 мкл): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов),

аллоиммунизированы к антигенам HLA и будут реагировать с большинством гранул LSA класса I. Содержит 0,1% азида натрия в качестве консерванта.

Хранить при температуре от 2 до 8°C.

265102: **LSANC1** LSA Класс I Отрицательный контроль (100 мкл): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), о котором известно, что

не имеют антител к HLA-антигенам и будут реагировать лишь с небольшим количеством гранул LSA класса I, если таковые вообще имеются. Содержит 0,1% азида натрия в качестве консерванта. Хранить при температуре от 2 до 8°C.

265200: **LSA2**

LIFECODES LSA™ Class II состоит из пяти (5) компонентов в количествах, достаточных для проведения 24 тестов.

265203 **LSA2B** **LSA Смесь для гранул класса II** (960 мкл): Смесь гранул, каждая из которых конъюгирована с отдельным HLA класса II. гликопротеин плюс контрольные шарики. Буфер для хранения представляет собой буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, Tween-20, азид натрия и бычий белок. **СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ**. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше. Хранить при температуре ≤ -65°C в темном месте.

265010 **LSACJ** **концентрат конъюгата LSA** (120 мкл): Козий античеловеческий IgG, конъюгированный с фикоэритрином в фосфат- на основе буфера для хранения, содержащего NaCl, Tween-20 и **DIL** натрийазид. **ДОЛЖЕН БЫТЬ РАЗБАВЛЕН 1:10** в промывочном буфере перед использованием. **ЛЕГКИЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ**. Хранить вдали от прямого света в течение длительного периода времени. Хранить при температуре от 2 до 8°C в темноте.

628221 **LMWB** **LIFECODES Промывочный буфер** (30 мл): Буфер на основе фосфатов, содержащий NaCl, твин-20, азид натрия и бычий сывороточный альбумин. Хранить при температуре от 2 до 8°C и довести до комнатной температуры (20-24°C) перед использованием.

265201 **LSAPC2** **LSA Class II Положительный контроль** (100 мкл): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), аллоиммунизированы антигенами HLA и будут реагировать с большинством гранул LSA класса II. Содержит 0,1% азида натрия в качестве консерванта. **Хранить при температуре от 2 до 8°C.**

265202 **LSANK** **LSA Класс II Отрицательный контроль** (100 мкл): Эта сыворотка или смесь сывороток получена от индивидуума(ов), о котором известно, что не имеют антител к HLA-антигенам и будут реагировать лишь с небольшим количеством гранул LSA класса II, если таковые вообще имеются. Содержит 0,1% азида натрия в качестве консерванта. Хранить при температуре от 2 до 8°C.

Предупреждения или предостережения
Для использования в диагностике in vitro.
Исходный человеческий материал, использованный при производстве этого набора, был протестирован и признан отрицательным на антитела к ВИЧ, ВГС и HBsAg методами, одобренными FDA. Однако ни один метод тестирования не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов. Поэтому при работе с этими материалами используйте универсальные меры предосторожности.
Замена компонентов, отличных от предусмотренных в этой системе, может привести к ошибочным результатам.
Реагенты содержат 0,1% азида натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием взрывоопасных азидов металлов. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.
Бактериальное заражение образцов или присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулинов может вызвать повышенное неспецифическое связывание и ошибочные результаты.
Этот продукт обнаруживает антитела IgG, которые могут быть или не быть лимфоцитотоксическими.
Этот продукт не должен обнаруживать антитела класса IgA или IgM иммуноглобулина.
Определение наличия или отсутствия антител к HLA не является единственным основанием для клинического решения, влияющего на лечение пациента.
Окончательная перекрестная совместимость обычно проводится перед трансплантацией.
Эти продукты предназначены для использования с прибором Luminex в соответствии с рекомендациями производителя.
Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местным законодательством.
Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности.
Инструкции по хранению
Указания по хранению см. на этикетках продуктов.
Бусины и конъюгат **СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫ**. Сократите обычное пребывание на свету до трех часов или меньше.
Очистка или обработка, необходимая для использования
См. «Сбор и подготовка образцов».
Перед использованием концентрат конъюгата необходимо развести 1:10 в промывочном буфере.
Признаки нестабильности
Не используйте компоненты или элементы управления, которые мутные или с истекшим сроком годности.
Утилизируйте все неиспользованные разведенные положительные и отрицательные контроли и конъюгируйте после использования.

ТРЕБОВАНИЯ К ПРИБОРАМ

Luminex Instrument and XY Platform (номер продукта LIFECODES 888300, 888302) или Luminex FLEXMAP 3D (номер продукта LIFECODES 888303).

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Кровь следует собирать без антикоагулянта с использованием асептической техники, и ее следует анализировать еще свежей, чтобы свести к минимуму вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций из-за неправильного хранения или загрязнения образца. Сыворотку следует хранить при температуре от 2 до 8°C не более 48 часов. Если сыворотку необходимо хранить более 48 часов, ее следует заморозить при температуре -20 °C или ниже на срок до 2 лет.
Отдельные лаборатории должны разработать и утвердить методы хранения сыворотки более 2 лет. Сыворотка должна быть отделена от эритроцитов при хранении или транспортировке. Избегайте многократного замораживания и оттаивания образцов сыворотки.

Не используйте микробиологически загрязненные, гемолизированные или липемические сыворотки, так как эти образцы могут давать противоречивые результаты.

Перед анализом все образцы следует встряхнуть и центрифугировать в течение короткого времени (30 секунд при 10 000 g) для осаждения любых твердых частиц, которые могут присутствовать.

ПРОЦЕДУРА

Предоставленные материалы (См. РЕАГЕНТЫ на стр. 2 для получения более подробной информации.)	
Смесь бисера LSA	Сыворотка отрицательного контроля
конъюгат концентрата	Лист записи
Промывочный буфер	Лист формата пластины
Положительная контрольная сыворотка	
Материалы, реагенты и оборудование, необходимые, но не предоставляемые (как указано или эквивалентно)	

Регулируемые пипетки на 5 мкл – 50 мкл с соответствующими наконечниками для пипеток
Многоканальная пипетка на 250 мкл с подходящими наконечниками и буферной емкостью
1,5 мл микроцентрифужные пробирки для разведения конъюгатов
Пробирки для образцов пациентов и контрольных образцов
Таймер
Маркировочная ручка
Многозканальные фильтрующие пластины Millipore (Millipore Cat # MSBVN1210, MSBVN1250, Lifecodes Cat # 888633 или 888633-50)
Luminex Sheath Fluid (Lifecodes, номер по каталогу 628005) или Luminex Sheath Fluid Plus (Lifecodes, номер по каталогу 628010)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:

Многозканальный вакуумный коллектор (Millipore Cat # MAVM 0960R, Qiagen Cat # 19504, Lifecodes Cat # 888315)
Калибровочные комплекты Luminex (Калибровочный комплект Luminex 100/200, Комплект для проверки рабочих характеристик Luminex 100/200, Lifecodes Cat # 628018 и 628019 соответственно) или
FLEXMAP 3D Calibration Kits (Luminex FLEXMAP 3D Calibration Kit, Luminex FLEXMAP 3D Performance Verification Kit, коды Lifecodes Cat # 888307 и 888308 соответственно)
Дистиллированная вода
Поворотная платформа
Клейкие пластиковые крышки (Corning Cat # 6524 или 6570)
НЕОБХОДИМО соблюдать осторожность, чтобы избежать загрязнения промывочного буфера и реагента против человеческого IgG. Непреднамеренное заражение этих реагентов человеческой сывороткой приведет к нейтрализации анти-человеческого IgG и, как следствие, к неудаче теста.
Необходимо соблюдать осторожность, чтобы контролировать силу вакуума. Сильное вакуумное давление может привести к прилипанию шариков к мембране, что приведет к сбою подсчета шариков.
Необходимо соблюдать осторожность при пипетировании в фильтровальную пластину, чтобы шарики не прилипали к стенкам лунок микропланшета. Бусины следует пипетировать в лунку, стараясь не касаться мембраны наконечником. Контакт мембраны с наконечником пипетки может привести к проколу мембраны и последующему отказу анализа.
Необходимо следить за тем, чтобы во время инкубации шарики не разбрызгивались и не прилипали к стенкам лунок. При запуске анализа в первый раз запустите несколько положительных и/или отрицательных контролей, чтобы определить оптимальную скорость для вращающейся платформы. Было показано, что скорость около 200 оборотов в минуту при размере орбиты 19 мм эффективна.
Присутствие значительных уровней несвязанных антител по завершении этапа промывки из-за избытка сыворотки или плохого промывания может снизить способность анализа обнаруживать IgG, связанный с сенсibilизированными гранулами, и привести к ошибочным результатам.
Образец сыворотки положительного и отрицательного контроля должен быть включен в каждый тест, чтобы помочь определить, произошла ли техническая ошибка или некачественный реагент.
Анализ подтверждается 10 мкл сыворотки (протокол 1) и 20 мкл сыворотки (протокол 2).
Достаньте смесь LSA Bead Mix из морозильной камеры и храните ее в темноте при комнатной температуре до оттаивания. Затем поместите на лед и защитите от света. ПРИМЕЧАНИЕ. Смесь шариков можно замораживать и размораживать не более 6 раз, что не повлияет на эффективность, как указано в разделе «Предполагаемое использование».
Оставьте другие компоненты при температуре от 2 до 8°C в темноте до тех пор, пока они не потребуются, доведите промывочный буфер до комнатной температуры (от 20 до 24°C) перед использованием. В это время используйте лист формата планшета, чтобы назначить положение на планшете для каждой сыворотки и контролей, подлежащих анализу. Контрольные сыворотки, поставляемые в наборе, используются для иллюстрации широко реактивной положительной аллосыворотки и отрицательной сыворотки.
Накройте неназначенные лунки фильтрующей пластины клейкой пластиковой крышкой. Предварительно смочите лунки 100-300 мкл дистиллированной воды. Через 2-5 минут удалите воду осторожной аспирацией с помощью вакуумного коллектора. (См. рекомендации производителя по правильному использованию.)
Подготовьте шарики LSA, кратковременно (30 секунд) центрифугируя флакон при 600–800 g, чтобы удалить любые шарики или жидкость с крышки или стенок флакона. Тщательно вортекс (~ 1 минута), чтобы равномерно ресуспендировать бисер.
Добавьте 40 мкл LSA Beads в каждую из назначенных лунок. Повторно встряхивайте флакон с шариками LSA каждые 2 минуты, чтобы шарики оставались во взвешенном состоянии при распределении шариков, затем добавьте 10 мкл сыворотки пациента и контрольной сыворотки (протокол 1) или 20 мкл сыворотки пациента и контрольной сыворотки (протокол 2) и перемешайте. .

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Важно держать шарики ресуспендированными, чтобы обеспечить достаточное количество шариков в аликвотах в лунки и обеспечить малое время подсчета. Отсутствие периодического встряхивания шариков приведет к тому, что шарики осядут на дно пробирки. Это приведет к тому, что в лунки будет распределяться различное количество шариков, что

Накройте пластину клейкой пластиковой крышкой, затем фольгой или коробкой для защиты от света. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20-24°C) в темноте на вращающейся платформе. Верните неиспользованные порции контрольной сыворотки на хранение при температуре от 2 до 8°C для использования в будущем. Верните неиспользованные порции LSA Bead Mix на хранение в ≤ -65°C в темноте для дальнейшего использования.

Разбавьте конъюгат промывочным буфером (5 мкл конъюгата на 45 мкл промывочного буфера на образец). Чтобы компенсировать потери при пипетировании, желателен восполнить один (1) дополнительный объем разбавленного конъюгата. Накройте фольгой и/или храните в темноте при комнатной температуре до использования. Верните неиспользованную часть концентрата конъюгата на хранение при температуре от 2 до 8°C в темноте для использования в будущем.

После 30-минутной инкубации снимите клейкую пластиковую крышку и добавьте в каждую лунку по 100 мкл промывочного буфера. Перемешать, чтобы ресуспендировать бусы и осторожно аспирировать пластину.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Использование чрезмерной силы вакуума приведет к прилипанию шариков к мембране, что может привести к повреждению образца. Примените минимальное давление вакуума, необходимое для аспирации образцов.

Добавьте 250 мкл промывочного буфера в каждую лунку, перемешайте, чтобы ресуспендировать гранулы, аспирируйте и повторите еще два раза, всего три промывки.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ: Отсутствие полной промывки может снизить способность конъюгата обнаруживать IgG, связанный с сенсibilизированными шариками, и привести к ложноотрицательным результатам.

Добавьте в каждую лунку по 50 мкл разбавленного конъюгата. Накройте тарелку фольгой или коробкой для защиты от света. Поместите на вращающуюся платформу или аккуратно встряхивайте каждые 5-10 минут. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (от 20 до 24°C).

Используя чистый наконечник пипетки, добавьте 130–150 мкл промывочного буфера в каждую лунку и перемешайте, чтобы ресуспендировать гранулы. Соберите данные с помощью инструмента Luminex, используя рекомендации производителя. Задержки более чем на 3 часа могут увеличить вероятность получения ложноположительных или ложноотрицательных реакций. Верните неиспользованную часть промывочного буфера на хранение при температуре от 2 до 8°C для использования в будущем.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Введите необработанные значения средней интенсивности флуоресценции (MFI) для каждой гранулы в лист записи для конкретной партии. Чтобы определить, является ли гранула положительной, сначала установите, превышает ли MFI для каждой гранулы, связанной с антигеном, пороговое значение MFI, указанное в регистрационном листе для конкретной партии, прилагаемом к набору. Если гранула, связанная с антигеном, превышает пороговое значение MFI, разделите MFI на MFI антигена с самым низким рангом (LRA) соответствующего локуса, чтобы получить отношение MFI/антиген с самым низким рангом (MFI/LRA). LRA для каждого локуса представляет собой значение MFI антигенной гранулы с самым низким рангом для этого локуса.

Пример: Индивидуальная бусина MFI = MFI/LRA для антигена «х» из локуса «1» LRA MFI для локуса «1»

Индивидуальная бусина MFI = MFI/LRA для антигена «у» из локуса «2» LRA MFI для локуса «2»

Индивидуальная бусина MFI = MFI/LRA для антигена «z» из локуса «3» LRA MFI для локуса «3»

Список антигенов, присутствующих на каждой грануле, и пороговое значение для определения положительного/отрицательного результата для каждой гранулы, связанной с антигеном, см. в листе регистрации для конкретной партии, входящем в комплект. Гранулы, связанные с антигеном, считаются положительными, если значение MFI выше порогового значения MFI, а отношение MFI/LRA выше порогового значения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества ALP Класса I и Класса II встроен в тест-систему путем включения положительных и отрицательных контрольных сывороток. Эти элементы управления должны быть включены в каждый запуск теста, чтобы помочь определить, произошли ли технические ошибки или сбой реагентов. Положительная контрольная сыворотка будет реагировать с большим количеством HLA-конъюгированных шариков, образуя образец, аналогичный тому, который указан в регистрационном листе для конкретной партии. Отрицательная контрольная сыворотка будет отрицательной и будет реагировать с небольшим количеством HLA-конъюгированных гранул, если таковые имеются, с получением значений ≤ 1000 MFI.

Наборы шариков включают два контрольных шарика для контроля производительности каждого образца. Гранулы положительного контроля покрыты человеческим IgG и должны давать значения $MFI \geq 10\,000$ с контрольной сывороткой. Если с контрольной сывороткой вы получаете значения менее $10\,000$ MFI, возможно, ваш анализ недостаточно промыт или ваш конъюгат может быть скомпрометирован. Образцы пациентов могут демонстрировать широкий диапазон реактивности с гранулами положительного контроля (см. раздел «Особые рабочие характеристики» для диапазонов, наблюдаемых во время клинических исследований). Границы отрицательного контроля должны показывать низкие значения MFI с контрольной сывороткой. Наблюдаемые пределы для контрольных шариков с контрольной сывороткой см. в протоколе для конкретной партии.

Анализ следует проводить в соответствии с рекомендациями, указанными на листке-вкладыше, а также с любыми другими процедурами контроля качества, соответствующими местным, государственным, федеральным требованиям и/или требованиям органов по аккредитации.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Ошибочные результаты могут быть вызваны бактериальным загрязнением тестируемых материалов, неадекватным периодом инкубации, неадекватной промывкой или декантацией гранул, воздействием рассеянного света на конъюгат или пропуском тестовых реагентов или этапов.

Присутствие иммунных комплексов или других агрегатов иммуноглобулинов в образце пациента может вызвать повышенное неспецифическое связывание и привести к ошибочным результатам этого анализа.

Антитела, обнаруженные с помощью наборов LSA, являются реактивными в популяции доступных антигенов, перечисленных в Листе регистрации. Гликопротеины LIFECODES с одним антигеном HLA класса I и II были получены из клеточных линий, экспрессирующих одиночные антигены HLA. Некоторые IgG с низкой avidностью или низким титром, IgA, IgM и моноспецифические антитела к антигенам, не включенным в панель, не будут обнаружены с помощью анализов LIFECODES Single Antigen.

Титры сывороточных антител зависят от пациента и момента времени. Если многие гранулы дают значения MFI выше $15\,000$, может потребоваться разведение сыворотки для лучшего обнаружения антител IgG.

Из-за сложного характера тестирования HLA квалифицированный персонал должен проверять интерпретацию данных. При определении специфичности антител с использованием наборов LSA необходимо учитывать результаты всех гранул, в том числе тех, которые могут быть на пороговом значении или близки к нему. Знание анамнеза пациента, а также понимание перекрестно-реактивных групп могут быть полезны при назначении специфичности конкретной сыворотке.

ИСПРАВЛЕНИЕ ПРОБЛЕМ

ПРОБЛЕМА	ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА	РЕШЕНИЕ
Низкое количество шариков	Бисерная смесь плохо взвешена	Импульсный вихрь для полного ресуспендирования
	Сбой прибора - вне калибровки	См. руководство к прибору Lumineх.
	Отказы прибора - поток пробы заблокирован	См. руководство к прибору Lumineх.
	Фотоотбеленные бусины	Использовать новый комплект
	Вакуумное давление слишком сильное/гранулы прилипли к мембране	Уменьшить силу вакуума; Фильтрующие пластины Millipore Multiscreen рекомендуют вакуум 271–406 миллибар (8–12 дюймов ртутного столба)
Порог отрицательного контроля на гранулах (NC) превзойден при использовании контрольной сыворотки	Плохая стирка	Повторяйте и контролируйте стирки
	Добавлен неправильный образец	Повторите с правильным контрольным образцом
Положительный контрольный шарик (PC) Пороговая недостаточность контроля Сера	Скомпрометированный конъюгат, например фотообесцвечивание	Использовать новый комплект
	Плохая стирка	Повторяйте и контролируйте стирки
	Добавлен неправильный образец	Повторите с правильным контрольным образцом
Аномальный образец сыворотки положительного контроля	Добавлен неправильный образец	Повторите с правильным контрольным образцом
	Плохая стирка	Повторяйте и контролируйте стирки
Положительное назначение для отрицательной контрольной сыворотки (> 2 гранул, конъюгированных с HLA) или > 1000 MFI.	Добавлен неправильный образец	Повторите с правильным контрольным образцом
	Плохая стирка	Повторяйте и контролируйте промывки, чтобы убедиться, что шарики снова подвешены во время промывки.
		Уменьшить силу вакуума

Ключ: Подчеркивание = Добавление или существенное изменение; ▲
= Удаление текста

	Загрязнение смеси шариков, промывочного буфера, отрицательный результат Контрольная сыворотка или концентрат конъюгата с положительным образцом	Использовать новый комплект
Забитая фильтровальная пластина	Твердые частицы в образце	Образец центрифуги приблизительно 5 минут при 8000–12 000xg

ОСОБЫЕ ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Когда наборы LIFECODES LSA используются в соответствии с описанной процедурой, результаты показывают наличие или отсутствие антител HLA IgG. В клиническом тестировании использовались пороговые значения LABScreen по умолчанию, при этом баллы >4 считались положительными.

ALP класса I

Набор LIFECODES LSA Class I показал соответствие 93,7% (93,4%) для 151 образца с соответствующими антигенами по сравнению с результатами, полученными с использованием LABScreen Single Antigen HLA Class I-Combi, Cat # LS1A04 (односторонний 95% нижний доверительный предел). Наблюдаемый диапазон для шарика положительного контроля в этом исследовании составлял 20 015–24 036 MFI.

ALP класса II

Набор LIFECODES LSA Class II показал совпадение 90,5% (89,9%) для 150 образцов с соответствующими антигенами по сравнению с результатами, полученными с использованием LABScreen Single Antigen HLA Class II-Group 1, Cat # LS2A01 (односторонний 95% нижний доверительный предел). Наблюдаемый диапазон для шарика положительного контроля в этом исследовании составлял 15 442–20 563 MFI.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Кляйн Дж., Сато А. Система HLA. Н. англ. Дж. Мед. 2000 г.; 343:702 и 343:782.	Роди, GE. HLA Beyond Tears (2-е издание). 2000 г.; 163.
Парэм, П. Иммунная система. Издательство Garland Publishing, Нью-Йорк и Лондон. 2000 г.; 55.	Маккенна, RM; Такемото, Словакия; Тerasаки, ИП. Антитела к HLA после трансплантации паренхиматозных органов. Трансплантация 2000; 69:319.

АВТОРИЗОВАННЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ

Авторизованный представитель:Immucor Medizinische Diagnostik GmbH, Robert-Bosch-Straße 32 D-63303 Dreieich, Германия Тел.: +49 (0) 6103 80560, Факс: +49 (0) 6103 8056199

Контактная информация службы технической поддержки:

США: Lifecodestechsupport@immucor.com
Международный: Tech.support.int.transplant@immucor.com



Изданный:2021-05-12



LIFECODES Assays Дополнительные реагенты – раствор для разбавления Для использования с

Наборы для набора текста LIFECODES HLA-SSO (628913, 628917, 628921, 628925, 628927, 628930, 628936)

ССЫЛКА

628515UDI Раствор для разведения (628515UDI)

IVD для диагностики in vitro



Оглавление

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ.....	2
ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ РЕАГЕНТОВ	2
РЕАГЕНТЫ	2
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	2
ОСТОРОЖНО	3
ПРОЦЕДУРА, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ТОЛКОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕНИЯ, ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ	3

Код партии		Номер каталога		Ограничение температуры		Производитель	
Использовать до		Достаточно для N тестов		Разбавьте перед использованием	DIL ☐	Предупреждение	
Внимание – см. инструкции по использованию		Обратитесь к инструкции по использованию		Медицинское устройство для диагностики in vitro	IVD ☐	Уполномоченный представитель в Европейском Сообществе	
Класс I	CLI ☐	Класс II	CLII ☐	Уникальная идентификация устройства	УДИ ☐	Импортер	

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Раствор для разбавления — это дополнительный вспомогательный реагент, предназначенный исключительно для использования со следующими продуктами для использования на определенных этапах разбавления, характерных для качественных продуктов для ручного анализа, указанных ниже:

Наборы для печати LIFECODES HLA-AeRES SSO (628913)

Наборы для печати LIFECODES HLA-BeRES SSO (628917)

Наборы для печати LIFECODES HLA-CeRES SSO (628921)

Наборы для печати LIFECODES HLA-DRB1eRES SSO

(628925) Наборы для печати LIFECODES HLA-DRB3,4,5 SSO

Наборы (628927) Наборы для печати LIFECODES HLA-

DQA1/B1 SSO (628930) Наборы для печати LIFECODES HLA-

DPA1/B1 SSO (628936)

Наборы для набора текста LIFECODES HLA-SSO представляют собой ручные качественные наборы для типирования ДНК аллелей HLA класса I и класса II для помощи в подборе HLA донора и реципиента при переливании крови и трансплантации. Специалисты лаборатории являются предполагаемыми пользователями устройства.

ОПИСАНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ РЕАГЕНТОВ

Перечисленные выше реагенты, включенные в наборы, доступны для индивидуального заказа для использования с анализами Immucor LIFECODES. Флакон или флакон с реагентом содержит номер детали реагента, который используется в анализе, или альтернативный номер, который соответствует большей или меньшей упаковке реагента. Номер UDI указан на этикетке реагента для раствора для разведения. Флакон или бутылка упакованы в пластиковую обертку, содержащую конкретную информацию об UDI, и упоминаются как номер детали реагента с включенным UDI.

Инструкции по использованию по назначению и дополнительную информацию см. в Инструкции по применению.
Наборы для набора текста LIFECODES HLA-SSO (LC1436IVDEN)

Информацию о безопасности см. в Паспорте безопасности (SDS).
Наборы для набора текста LIFECODES HLA-SSO (LC802EN)

Инструкции по применению и паспорт безопасности доступны на веб-сайте Immucor.

РЕАГЕНТЫ

Ниже приведен список дополнительных реагентов, которые можно приобрести отдельно от анализов. Все реагенты следует хранить в соответствии с указаниями на этикетке.

ПРИМЕЧАНИЕ. Дополнительные реагенты доступны в ограниченном количестве. Рекомендуется заказывать дополнительные реагенты во время запроса анализов LIFECODES.

	Каталог #	Реагент	ССЫЛКА	Приложение для анализа
ДС	628515UDI	Раствор для разведения (19,7 мл): Готовый для использования. Вortex перед использованием. Магазин в от 18 до 30°C.	628515UDI	LIFECODES Тип HLA-SSO Комплекты: 628913, 628917, 628921, 628925, 628927, 628930, 628936

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

LIFECODES Assays Дополнительные реагенты-раствор для разбавления

628913.AR (RU) REV A

Ключ: Подчеркивание = Добавление или существенное изменение; ▲ = Удаление текста

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Утилизируйте все материалы после использования в соответствии с местным законодательством.
- Не используйте мутные компоненты или компоненты с истекшим сроком годности.
- Эти продукты предназначены для использования с прибором Luminex в соответствии с рекомендациями производителя.

ОСТОРОЖНОСТЬ

- Некоторые реагенты содержат 0,1% азиды натрия в качестве консерванта, который может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием взрывоопасных азидов металлов. Используйте большое количество воды, когда выбрасываете материалы в раковину.

Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности.

ПРОЦЕДУРА, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА, ТОЛКОВАНИЕ, ОГРАНИЧЕНИЯ, ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТЬ

См. Инструкции по применению анализа (IFU) для получения информации о характеристиках анализа.



Immucor GTI Diagnostics,
Inc. 20925 Crossroads Circle
Waukesha, WI 53186 USA



Иммукор Медицинский Диагност ГмбХ
Роберт-Бош-Штрассе 32
63303 Драйейх
Германия



США и международная контактная информация:

Техническая поддержка : waukeshatechsupport@immucor.com

www.immucor.com

© 2019-2022 Immucor GTI Diagnostics, Inc.

628913.AR (EN) ред. А
2022-04-27