

DE

Gebrauchsinformation

HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits

Testkits zur Identifizierung von anti-HLA Antikörpern
mittels einer immundiagnostischen Multiplex-Methode

Elektronische Gebrauchsinformation siehe www.bag-diagnostics.com



REF 728100: HISTO SPOT® HLA AB ID Class I (48 Tests)

Version: 10 / 2020

REF 728101: HISTO SPOT® HLA AB ID Class II (48 Tests)

Stand: 2020-12

REF 728102: HISTO SPOT® HLA AB Screen/ ID Class I (480 Tests)

Änderungen gegenüber

REF 728103: HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Class II (480 Tests)

Version 09 / 2020 sind

REF 728198: HISTO SPOT® AB Reagent Kit (96 Tests)

gelb markiert.

Inhalt

1.	PRODUKTBESCHREIBUNG	2
2.	TESTPRINZIP	2
3.	MATERIAL.....	3
3.1	Inhalt der HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits für die HLA Klasse I und Klasse II.....	3
3.1.1	HISTO SPOT® AB ID Class I Kit.....	3
3.1.2	HISTO SPOT® AB ID Class II Kit.....	3
3.1.3	HISTO SPOT® AB Screen / ID Class I Kit.....	3
3.1.4	HISTO SPOT® AB Screen/ID Class II Kit.....	3
3.2	Inhalt des HISTO SPOT® AB Reagent Kits.....	4
3.3	Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Geräte	4
4.	LAGERUNG UND HALTBARKEIT	4
5.	TESTDURCHFÜHRUNG	5
5.1	Vorsichtsmaßnahmen und besondere Hinweise	5
5.2	Probenvorbereitung	5
5.3	Automatisierter Assay auf dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor	5
5.3.1	Reagenzienvorbereitung.....	5
5.3.2	Verdünnung der Proben / Kontrollen.....	6
5.3.3	Start des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors	7
5.3.4	Transfer der Ergebnisse zu einem PC für die Interpretation.....	8
5.3.5	Interpretation der Ergebnisse.....	8
6.	WARN- UND ENTSORGUNGSHINWEISE.....	9
7.	LEISTUNGSMERKMALE.....	10
7.1	Analytische Sensitivität	10
7.2	Diagnostische Sensitivität	10
7.3	Diagnostische Spezifität.....	11
7.4	Wiederholbarkeit.....	11
8.	GRENZEN DER METHODE	11
9.	INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE	12
10.	PROBLEMBEHANDLUNG.....	12
11.	VERWENDETE MARKENNAMEN.....	13
12.	ERKLÄRUNG DER SYMBOLE AUF DEN ETIKETTEN	13

1. PRODUKTBESCHREIBUNG

Das HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID System ist ein In-vitro-Diagnostikum zur Identifizierung von HLA Antikörpern auf einer immundiagnostischen Basis und bietet eine hohe Auflösung der Antikörper (Ab) Identifizierungsergebnisse. Es besteht aus den HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits, dem HISTO SPOT® AB Reagent Kit, dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor und der HISTO MATCH HLA AB Modul Interpretations-Software.

Die HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits enthalten die Testgefäße mit den immobilisierten HLA Klasse I oder Klasse II Antigenen für die Detektion der spezifischen anti-HLA Antikörper, sowie eine Negativ- und eine Positivkontrolle. Der HISTO SPOT® AB Reagent Kit enthält die Reagenzien für die Inkubation und die Detektion der gebundenen Antikörper und kann in Kombination mit allen HISTO SPOT® HLA AB Screening- und Identifizierungskits benutzt werden. Der MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor wurde speziell für die automatische Abarbeitung der HISTO SPOT® Kits entwickelt. Es können zwischen 1 und 96 Tests gleichzeitig bearbeitet werden. Die HISTO MATCH HLA AB Modul Software wird für die Interpretation der Ergebnisse benötigt.

2. TESTPRINZIP

Der Test beinhaltet vier grundlegende Schritte:

- Probenvorbereitung
- Inkubation
- Detektion
- Interpretation

Der HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Test ist ein miniaturisierter und Festphasen gebundener Enzyme Linked Immunosorbent Assay in einem Multiplex-Format. In jedem Testgefäß der Mikrotiterplatte ist eine variable Anzahl von rekombinanten oder nativen HLA Antigenen gebunden. Jedes Antigen wird einzeln auf den Boden der Testgefäße aufgebracht, um eine unabhängige Reaktion zu gewährleisten.

Die verdünnten Seren werden in die Testgefäße mit den immobilisierten HLA Antigenen übertragen. In der darauf folgenden Inkubationszeit binden im Serum vorhandene Anti-HLA Antikörper an die spezifischen Antigene. Dann werden in einem ersten Waschschrift die nicht spezifischen Antikörper entfernt. Nach diesem Waschschrift wird ein spezifischer, mit Peroxidase markierter Antikörper gegen humanes IgG (Konjugat) in die Testgefäße pipettiert, der in einem weiteren Inkubationsschritt an vorhandene Antikörper-Antigen-Komplexe bindet. Dann wird in einem Waschschrift ungebundenes Konjugat entfernt. Anschließend wird ein TMB Substrat in jedes Testgefäß gegeben. In Anwesenheit von Peroxidase findet eine Enzym-Substrat Reaktion statt, die eine Blaufärbung der Spots bewirkt. Die Spots am Boden der Testgefäße werden am Ende des Laufes vom MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor fotografiert und die Bilder werden zur Auswertung in die HISTO MATCH HLA AB Modul Software übertragen. Die HISTO MATCH HLA AB Modul Software bestimmt die Intensität jedes Spots in den Arrays und vergleicht diese mit dem Hintergrund. Aus diesen Daten werden die negativen und positiven Reaktionen berechnet. Die Reaktionen werden von der HISTO MATCH HLA AB Modul Software den einzelnen HLA Antigenen zugeordnet und die in der Probe identifizierten HLA Antikörper werden dargestellt.

3. MATERIAL

3.1 Inhalt der HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits für die HLA Klasse I und Klasse II

Alle Batch Files und Gebrauchsinformationen befinden sich auf den mitgelieferten CDs und können von der Website heruntergeladen werden:

<https://www.bag-diagnostics.com/de/downloads.html>

3.1.1 HISTO SPOT® AB ID Class I Kit

Testwells Abs Class I **8er Teststreifen**, einzeln verpackt, jeder Streifen enthält 8 Tests, enthalten immobilisierte HLA Klasse I Antigene

CONTROL | + **Positivkontrolle**, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (rosa Deckel)

CONTROL | - **Negativkontrolle**, gebrauchsfertig, enthält 0.04% Proclin®

In jedem Kit befindet sich eine CD mit der Gebrauchsinformation und mit dem Batch File, der in die Datenbank der HISTO MATCH Auswertesoftware eingelesen werden muss.

3.1.2 HISTO SPOT® AB ID Class II Kit

Testwells Abs Class II **8er Teststreifen**, einzeln verpackt, jeder Streifen enthält 8 Tests, enthalten immobilisierte HLA Klasse II Antigene

CONTROL | + **Positivkontrolle**, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (blauer Deckel)

CONTROL | - **Negativ Kontrolle**, gebrauchsfertig, enthält 0.04% Proclin®

In jedem Kit befindet sich eine CD mit der Gebrauchsinformation und mit dem Batch File, der in die Datenbank der HISTO MATCH Auswertesoftware eingelesen werden muss.

3.1.3 HISTO SPOT® AB Screen / ID Class I Kit

Testwells Abs Class I **96er Testplatten**, einzeln verpackt, jede Platte enthält 96 Tests, enthalten immobilisierte HLA Klasse I Antigene

CONTROL | + **Positivkontrolle**, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (rosa Deckel)

CONTROL | - **Negativkontrolle**, gebrauchsfertig, enthält 0.04% Proclin®

In jedem Kit befindet sich eine CD mit der Gebrauchsinformation und mit dem Batch File, der in die Datenbank der HISTO MATCH Auswertesoftware eingelesen werden muss.

3.1.4 HISTO SPOT® AB Screen/ID Class II Kit

Testwells Abs Class II **96er Testplatten** einzeln verpackt, jede Platte enthält 96 Tests, enthalten immobilisierte HLA Klasse II Antigene

CONTROL | + **Positivkontrolle**, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (blauer Deckel)

CONTROL | - **Negativ Kontrolle**, gebrauchsfertig, enthält 0.04% Proclin®

In jedem Kit befindet sich eine CD mit der Gebrauchsinformation und mit dem Batch File, der in die Datenbank der HISTO MATCH Auswertesoftware eingelesen werden muss.

3.2 Inhalt des HISTO SPOT® AB Reagent Kits

Die Reagenzien in einem Kit sind ausreichend für 96 Tests. Jeder Kit enthält:

SAMBUF	Probenpuffer , gebrauchsfertig, enthält 0.05% Proclin® 300
WASHBUF	Waschpuffer , gebrauchsfertig, enthält 0.05% Proclin® 300
CONJ AB	Konjugat , IgG Konjugat mit Antikörpern gegen humanes IgG und Meerrettich-Peroxidase, enthält 0.05% Proclin® 300
CONJBUF	Konjugatverdünnungspuffer , gebrauchsfertig, enthält 0.05% Proclin® 300
SUBS AB	Substrat , gebrauchsfertig (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine)

In jedem Kit befindet sich eine CD mit der Gebrauchsinformation.

3.3 Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Geräte

- MR.SPOT® Prozessor **REF** 726100 oder MR.SPOT® 2.0 Prozessor **REF** 726110
- HISTO MATCH Software **REF** 726102
- Pipettenspitzen für den MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor
1000 µl **REF** 726099 und 200 µl **REF** 726097
- Probenplatte: PCR Platten mit Rand und passende Deckel oder PCR-Folie
(FrameStar® Break-A-Way PCR Plate **REF** 726220, HISTO SPOT® PCR Caps
REF 726090, HISTO SPOT® PCR Foils **REF** 726089)
- Deionisiertes Wasser
- Variable Pipetten (0,5 – 1000 µl) und Pipettenspitzen

4. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Alle Reagenzien und Kitkomponenten müssen bei 2...8°C gelagert werden. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett der jeweiligen Reagenzien angegeben und gilt für die ungeöffneten Verpackungen. Das Verfallsdatum auf dem Außenetikett der Packung bezieht sich auf das Reagenz in der Packung mit der kürzesten Haltbarkeit. Die Leistung des Assays hängt von der Stabilität der Reagenzien ab, diese dürfen nach dem Verfall der Haltbarkeit nicht mehr verwendet werden. Testgefäße mit geöffneter Folie müssen **innerhalb von sieben Tagen** verbraucht werden. Geöffnete Reagenzien müssen innerhalb von **1 Monat** nach dem Öffnen verbraucht werden. Die Konjugat-Verdünnung muss **für jeden Lauf frisch** angesetzt werden.

5. TESTDURCHFÜHRUNG

5.1 Vorsichtsmaßnahmen und besondere Hinweise

Der HISTO SPOT® HLA AB Test sollte nur von qualifiziertem und gut geschultem Fachpersonal durchgeführt werden. Die HISTO SPOT® AB Kits können nur in Kombination mit dem HISTO SPOT® AB Reagent Kit, dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor und der HISTO MATCH HLA AB Modul Software verwendet werden.

Die Ergebnisse dieses Tests dürfen nicht als einzige Grundlage genutzt werden, um eine klinische Entscheidung zu treffen.

Besondere Vorsichtsmaßnahmen sind zu beachten, um Kontaminationen und damit falsche Reaktionen zu vermeiden:

- ◆ prinzipiell mit Handschuhen (möglichst puderfrei) arbeiten
- ◆ bei jedem Pipettierschritt neue Spitzen (mit Filtereinsatz oder integriertem Stempel) verwenden
- ◆ Geräte und andere Materialien nur an den jeweiligen Arbeitsplätzen verwenden und nicht austauschen

Alle Reagenzien und Tröge, welche für diesen Assay benutzt werden, müssen für die HISTO SPOT® HLA AB Kits vorgesehen sein. Die Reagenzien und Tröge, welche für die SSO DNA Tests verwendet werden, dürfen nicht eingesetzt werden.

5.2 Probenvorbereitung

Als Probenmaterial muss Serum verwendet werden. Proben, die mit Antikoagulantien versetzt sind, dürfen nicht verwendet werden. Eine Behandlung der Seren mit EDTA ist für diesen Test zulässig. Bei hitzebehandelten Proben und Proben mit mikrobiellen Kontaminationen können unspezifischen Reaktionen auftreten. Diese sollten deshalb nicht verwendet werden. Lipämische oder hämolytische Proben sollten ebenfalls nicht eingesetzt werden.

Die Seren müssen vor der Testung bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben vermeiden.

Proben aus dem Gefrierschrank nehmen und auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Proben müssen vor der Testung durch Zentrifugation (1 bis 5 Minuten bei 2500 bis 10 000 g) geklärt werden. Wenn sich nach der Zentrifugation eine Fettschicht auf dem Serum gebildet hat, muss diese entfernt werden bzw. der klare Teil der Probe muss verwendet werden.

Die geklärte Serumprobe muss vor der Verdünnung gevortext werden.

5.3 Automatisierter Assay auf dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor

5.3.1 Reagenzienvorbereitung

HISTO SPOT® AB Reagenzien und HISTO SPOT® AB Testgefäße aus dem Kühlschrank nehmen und auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

SAMBUF und **CONJBUF** vor Gebrauch gut schütteln.

CONTROL - muss vor dem Gebrauch gevortext werden.

Im Waschpuffer (**WASHBUF**) können sich **Salzkristalle** bilden. Die komplette Lösung (kein Aliquot) **für ca 15 Minuten auf 30°C erwärmen**, um die Salzkristalle aufzulösen. Den Waschpuffer anschließend auf zurückgebliebene Kristalle überprüfen, falls noch Kristalle vorhanden sind die Erwärmungszeit verlängern.

Das Konjugat **1:100** mit Konjugatverdünnungspuffer verdünnen.

Die Konjugatverdünnung muss für jeden Lauf frisch angesetzt werden.

Das Konjugat muss vor jedem Verdünnungsschritt gevortext und abzentrifugiert werden!

Die erforderlichen Mengen an Reagenzien variieren entsprechend der Anzahl der Streifen, die zum Testen eingesetzt werden sollen. Der MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 zeigt die benötigten Volumina für die Reagenzien auf dem Bildschirm an. Die angegebenen Volumina der benötigten Reagenzien in die **entsprechend beschrifteten Vorratsgefäße** füllen.

Die Reagenzien dürfen **nicht** für einen zweiten Lauf verwendet werden. Nach jedem Lauf müssen alle Reagenzien, die in den Trögen zurückbleiben, verworfen werden.

5.3.2 Verdünnung der Proben / Kontrollen

Es ist möglich **Testwells Abs Class I** und **Testwells Abs Class II** im selben MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Lauf einzusetzen, jedoch ist hierbei auf die korrekten Volumina und die Verteilung der Seren auf der Probenplatte zu achten.

- **HLA AB ID Class I: 5 µl Serum** und **95 µl SAMBUF** in die Probenplatte pipettieren. Mindestens 5 x mixen oder die verschlossene Probenplatte nach der Verdünnung vortexen und abzentrifugieren.

und/oder

- **HLA AB ID Class II: 2 µl Serum** und **98 µl SAMBUF** in die Probenplatte pipettieren. Mindestens 5 x mixen oder die verschlossene Probenplatte nach der Verdünnung vortexen und abzentrifugieren.

In jedem Lauf und für jeden Assay (Klasse I und Klasse II) müssen **CONTROL +** und **CONTROL -** mitgeführt werden.

- **CONTROL +** wird vor dem Gebrauch 1:50 verdünnt:
1 µl **CONTROL +** in 50 µl **SAMBUF** verdünnen und vortexen
- **CONTROL - NC01** und verdünnte **CONTROL + PC01** (Klasse I) werden wie Proben verwendet:
5 µl **CONTROL -** bzw. **CONTROL +** und 95 µl **SAMBUF** in die Probenplatte pipettieren. Mindestens 5 mal mixen oder die verschlossene Probenplatte nach der Verdünnung vortexen und abzentrifugieren.
- **CONTROL - NC02** und verdünnte **CONTROL + PC02** (Klasse II) werden wie Proben verwendet:
2 µl **CONTROL -** bzw. **CONTROL +** und 98 µl **SAMBUF** in die Probenplatte pipettieren. Mindestens 5 mal mixen oder die verschlossene Probenplatte nach der Verdünnung vortexen und abzentrifugieren.

Die oben angegebenen Verdünnungen der Seren (1:20 für Klasse I und 1:50 für Klasse II) sind validiert und liefern für die meisten der getesteten Seren optimale Ergebnisse. Wenn Seren sehr schwache oder sehr starke Reaktionen zeigen, können andere Verdünnungsstufen besser sein. Es wird empfohlen, Seren mit unklaren Ergebnissen zu titrieren.

Die Probenplatte mit den verdünnten Seren und Kontrollen in den Probenplattenhalter des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors stellen. Dabei auf die korrekte Orientierung der Probenplatte achten.

Die Testgefäße in den Reaktionsplattenhalter des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors stellen. Auf die richtige Ausrichtung der Testgefäße entsprechend des Arbeitslisten-Layouts achten. Bitte sicherstellen, dass sich kein Schmutz oder Plastikteilchen im Reaktionsplattenhalter befindet.

Die Teststreifen können entsprechend Abbildung 1 in einzelne Testgefäße geteilt werden, wenn weniger als 8 Tests benötigt werden. Bei der Verwendung von geteilten Streifen muss darauf geachtet werden, dass die Streifen gut im Reaktionsplattenhalter stehen und nicht gegeneinander verkantet sind. **Es müssen durchsichtige Dummy-Testgefäße hinzugefügt werden, um die Anzahl der Tests auf ein Vielfaches von Vier zu ergänzen!**

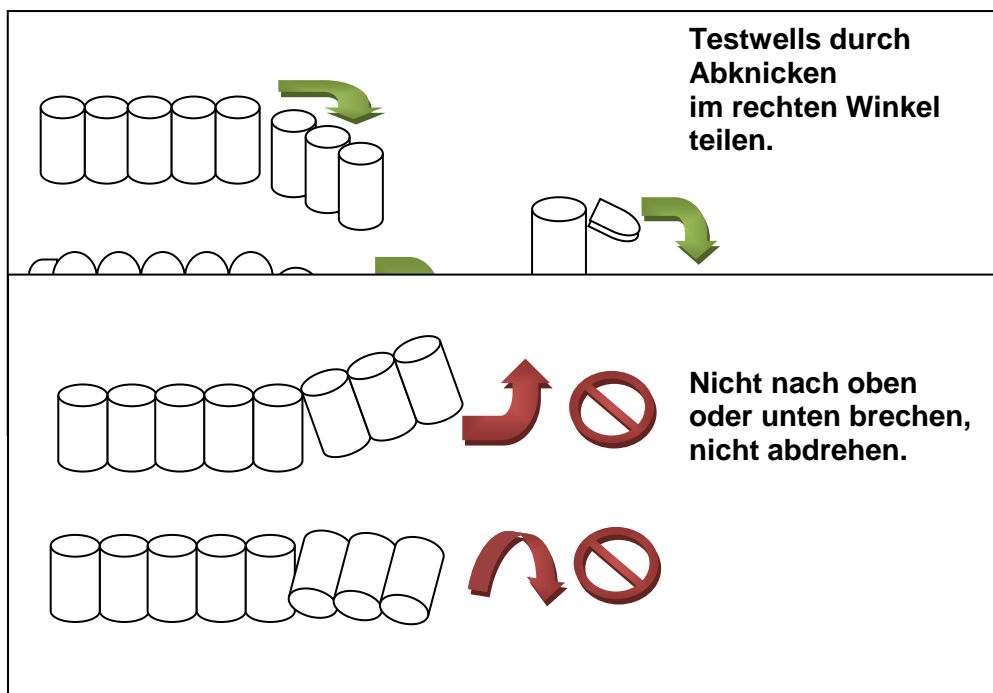


Abbildung 1: Teststreifen teilen

5.3.3 Start des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors

Den MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor anschalten. Daraufhin erscheint der Start-Bildschirm. Den Anweisungen auf dem Bildschirm folgen. Eine detaillierte Beschreibung befindet sich im Benutzerhandbuch des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors. Die Temperatur im Prozessor darf 30°C nicht überschreiten.

5.3.4 Transfer der Ergebnisse zu einem PC für die Interpretation

Die Daten werden, wie in der Gebrauchsinformation für die HISTO MATCH Software beschrieben, entweder über das Netzwerk oder mit Hilfe eines USB Sticks in die Auswertesoftware transferiert.

5.3.5 Interpretation der Ergebnisse



Es muss sichergestellt sein, dass die aktuelle Version des HISTO MATCH HLA AB Moduls verwendet wird – dies ist die Version 4.2.1. Die Gebrauchsinformation für die HISTO MATCH Software muss beachtet werden.

Die HISTO MATCH HLA AB Modul Software öffnen (falls diese noch nicht installiert ist, kann sie von der CD aus, welche mit dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor geliefert wird, installiert werden) und die Daten, wie in der Gebrauchsinformation für die HISTO MATCH Software beschrieben, auswerten.

Die Bilder sollten wie in Abbildung 2 dargestellt aussehen. Abbildung 3 zeigt eine schematische Darstellung der Ergebnisse und die Funktion der verschiedenen Sonden.

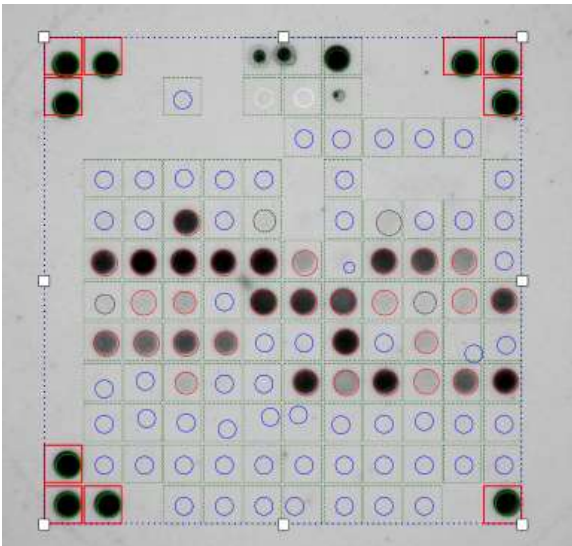


Abbildung 2: Beispiel für eine Probe mit Anti-HLA Klasse I Antikörpern.

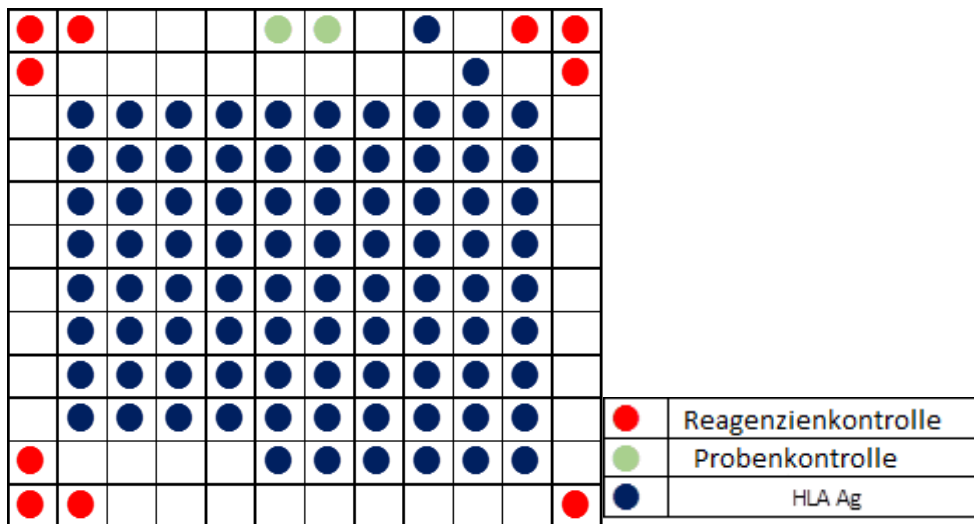


Abbildung 3: Schematische Darstellung des HISTO SPOT® HLA AB ID Class I Kits

Die Interpretation der Spots durch die Software muss vom Anwender visuell überprüft werden. Die automatische Interpretation ist ein Hilfsmittel für den Anwender und muss validiert werden, indem das Bild und die Plausibilität überprüft werden, bevor ein Ergebnis zugeordnet wird. Bei nicht validen Ergebnissen, z.B. durch Staubpartikel oder Schlieren kann der Anwender den Spot manuell verschieben oder inaktivieren (siehe Gebrauchsinformation für das HISTO MATCH HLA AB Modul).

Wenn ein Patientenserum mit mehr als 80% der Antigene auf dem Mikroarray eine positive Reaktion zeigt, ist das Ergebnis nicht interpretierbar, da es sich um unspezifische Reaktionen handeln muss. Ein weiterer Test mit einer höheren Verdünnung (z.B. 1:100 für Klasse I und 1:200 für Klasse II) sollte durchgeführt werden, um unspezifische Reaktionen zu vermeiden und die spezifischen Reaktionen zu bestimmen.

Für die positiven Kontrollseren werden folgende positive Reaktionen erwartet:

Klasse I: positiv mit allen Klasse I Antigenen (spezifisch für β 2 Mikroglobulin)

Klasse II: positiv mit allen DP, allen DR und den DQ2 Antigenen (spezifisch für Public Epitopes)

6. WARN- UND ENTSORGUNGSHINWEISE

HISTO SPOT® ist für den Gebrauch als In vitro Diagnostikum konzipiert und sollte nur von speziell ausgebildetem, qualifiziertem Personal verwendet werden. Alle Arbeiten sollten unter Berücksichtigung der guten Laborpraxis durchgeführt werden.

Sämtliche für den Test verwendete Materialien biologischen Ursprungs, zum Beispiel Serum, sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Beim Umgang mit biologischen Materialien werden deshalb angemessene Sicherheitsvorkehrungen empfohlen (nicht mit dem Mund pipettieren; Schutzhandschuhe bei der Testdurchführung tragen; Händedesinfektion nach der Testdurchführung).

Biologische Materialien sollten vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren). Einwegmaterialien sind nach Gebrauch zu autoklavieren oder zu verbrennen.

Verschüttetes, potentiell infektiöses Material sollte unverzüglich mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich mit einem geeigneten Desinfektionsmittel oder 70%igem Ethanol desinfiziert werden. Material, das für die Entfernung von Verschüttetem benutzt wurde, muss vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren).

Der **SAMBUF**, **WASHBUF**, **CONJBUF** und die **CONTROL -** enthalten als Konservierungsmittel ProClin®300 in einer geringen Konzentration von $\leq 0.05\%$. Trotzdem wird empfohlen, den Kontakt mit Haut und Schleimhäuten zu vermeiden.

SUBS AB nicht mit Metallen und oxidierenden Stoffen in Berührung bringen. **SUBS AB** kann hautsensibilisierende und schwach wassergefährdende Eigenschaften besitzen.

Bei allen Arbeiten mit den Reagenzien sollten geeignete Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden. Beim Umgang mit den Reagenzien sollte Augenschutz, ein Laborkittel und Schutzhandschuhe getragen werden. Kontakt dieser Materialien mit der Haut, Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Berührung sofort mit viel Wasser abwaschen. Bei Nichtbehandlung können Verbrennungen auftreten.

Wenn Reagenzien verschüttet werden, vor dem Aufwischen mit Wasser verdünnen. Die Entsorgung aller Proben, ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend der Gesetzgebung des jeweiligen Landes und der lokalen Behörden erfolgen.

Mikrobielle Kontamination der Reagenzien bei der Entnahme von Aliquots sollte vermieden werden. Der Gebrauch von sterilen Einmalpipetten und Pipettenspitzen wird empfohlen. Keine Reagenzien mit Trübung oder Anzeichen für mikrobielle Kontamination verwenden.

Zur Vermeidung von bakteriellem Wachstum in den Schläuchen, sollte der MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor einmal in Monat entsprechend den Angaben im Benutzerhandbuch desinfiziert werden.

Sicherheitsdatenblätter (SDB) stehen auf www.bag-diagnostics.com zum Download bereit.

7. LEISTUNGSMERKMALE

7.1 Analytische Sensitivität

Klasse I: Alle 96 Antigene werden mit der Positivkontrolle (W6/32 monoklonaler Antikörper) in einer Konzentration von 3,125 ng/ml und darüber nachgewiesen.

Klasse I: Alle 60 erwarteten Antigene werden mit der Positivkontrolle (F.3.3 monoklonaler Antikörper) in einer Konzentration von 0,3 ng/ml und darüber nachgewiesen.

7.2 Diagnostische Sensitivität

Klasse I:

- Nachweis von 76% der Konsensusspezifitäten, die von mehr als 75% (INSTAND - Deutschland) oder mehr als 95% (EPT - Niederlande) der teilnehmenden Labore in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test gefunden wurden. Es wurden 22 positive Seren mit 537 Konsensusspezifitäten getestet.
- Nachweis von 100% der mit dem komplementabhängigen Zytotoxizitätstest (CDC) gefundenen Spezifitäten für 30 positive Seren mit 117 CDC Spezifitäten.

Klasse II:

- Nachweis von 93% der Konsensusspezifitäten, die von mehr als 95% der teilnehmenden Labore (EPT – Niederlande, SFHI - Frankreich) in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test gefunden wurden. Es wurden 85 Seren mit 1045 Konsensusspezifitäten getestet.
- Nachweis von 100% der mit dem komplementabhängigen Zytotoxizitätstest (CDC) gefundenen Spezifitäten für 12 positive Seren und 3 monoklonale Antikörper mit 24 CDC Spezifitäten.

7.3 Diagnostische Spezifität**Klasse I:**

- 95% der negativen Konsensusspezifitäten, die von mehr als 95% der teilnehmenden Labore (EPT – Niederlande) in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test bestimmt wurden, waren mit dem HISTO SPOT® HLA AB Class I Kit negativ. 22 Seren wurden mit 8 verschiedenen Batches getestet und insgesamt 8080 negative Spezifitäten analysiert.

Klasse II:

- 96% der negativen Konsensusspezifitäten, die von mehr als 95% der teilnehmenden Labore (EPT – Niederlande, SFHI - Frankreich) in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test bestimmt wurden, waren mit dem HISTO SPOT® HLA AB Class II Kit negativ. 85 Seren wurden getestet und insgesamt 3582 negative Spezifitäten analysiert.

7.4 Wiederholbarkeit

Klasse I: Der globale Variationskoeffizient (CV) für die Mittlere Signalintensität (MCI) mit 8 Replikaten der Positivkontrolle für drei verschiedene Konzentrationen liegt zwischen 1% und 3%. Der globale Variationskoeffizient (CV) für 8 Replikate von 6 Patientenserumseren liegt zwischen 6% und 9%.

Klasse II: Der globale Variationskoeffizient (CV) für die Mittlere Signalintensität (MCI) mit 6 Replikaten der Positivkontrolle für zwei verschiedene Konzentrationen liegt zwischen 4% und 6%.

8. GRENZEN DER METHODE

Es sollte unbedingt darauf geachtet werden, bakterielle Kontaminationen von Kit-Reagenzien, anderen Labormaterialien und Geräten zu vermeiden. Fehlerhafte Ergebnisse können auftreten, wenn nicht geeignete Reagenzien, Temperaturen, Inkubationszeiten oder Waschschritte verwendet werden. Deshalb sind die HISTO SPOT® HLA AB Tests nur in Kombination mit dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor zu verwenden, um die Einhaltung der korrekten Temperaturen und Inkubationszeiten sicherzustellen.

Alle Geräte (z.B. Pipetten, MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor) müssen entsprechend der Herstellervorgaben kalibriert werden.

Proben von Patienten mit einer Autoimmunschwäche oder von Patienten, die eine Immunglobulin-Therapie erhalten, dürfen nicht getestet werden. Bei solchen Proben kann es zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen kommen.

Falls ein Patientenserum mit mehr als 80% der Antigene in den Testgefäßen positiv reagiert, sollte der Test mit einer höheren Verdünnung wiederholt werden, um falsch positive Interaktionen zu vermeiden.

Manche Antikörper mit einem geringen Titer können möglicherweise nicht detektiert werden und zeigen falsch negative Ergebnisse.

Probenvorbereitungsmethoden, die nicht im Kapitel Probenvorbereitung aufgeführt sind, müssen vom Anwender selbst validiert werden.

9. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Interne Positivkontrollen sind in jedem Testwell zur Überprüfung der erfolgreichen Inkubation und Reagenzienübertragung enthalten.

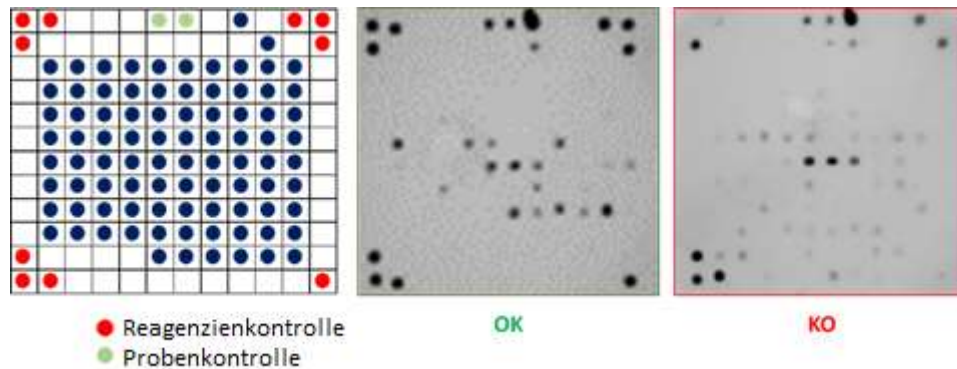


Abbildung 4: Überprüfung der Kontrollen vor der Auswertung des Tests

Der Anwender muss vor der Auswertung der Ergebnisse überprüfen, ob alle Kontrollspots positiv sind. Im Falle von schwachen oder ausgefallenen IgG oder Anti-IgG Kontrollspots darf das Ergebnis nicht interpretiert werden.

10. PROBLEMBEHANDLUNG






Fehler	Mögliches Problem	Potentielle Lösung
Fehlfunktion des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors	verschiedene	Siehe Handbuch für den MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor
Fehlermeldung beim Datentransfer	Fehler beim Datentransfer	Daten manuell über einen USB Speicher übertragen
Kein Ergebnis	Fehler bei automatischer Lokalisation der Spots im Bild	Manuelle Lokalisation der Spots durchführen
Keine Punkte im Testgefäß	Fehler bei der Reagenzienübertragung	Test wiederholen
Kein Ergebnis/ Widersprüchliches Ergebnis aufgrund schwacher Signale	Fehler bei der Konjugatverdünnung Fehlfunktion des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors	Test wiederholen MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor überprüfen

11. VERWENDETE MARKENNAMEN

Proclin® ist ein Markenname der Firma Rohm und Haas.

FrameStar® fällt unter eines oder mehrere der folgenden US Patente oder deren Entsprechungen für andere Länder, die Eigentum der Eppendorf AG sind: US Patent Nos. 7, 347, 977 und 6, 340, 589. FrameStar® ist ein Markenname der Firma 4titude® Ltd.

12. ERKLÄRUNG DER SYMBOLE AUF DEN ETIKETTEN

	Lagertemperatur / Temperaturbegrenzung
	Verwendbar bis
	Gebrauchsinformation beachten
	Ausreichend für n Tests
	Hersteller
CLASS I	HLA Klasse I
CLASS II	HLA Klasse II
CONJ AB	Anti-human IgG Konjugat (Meerrettich-Peroxidase)
CONJBUF	Konjugatverdünnungspuffer
CONTROL +	Positivkontrolle
CONTROL -	Negativkontrolle
eIFU	Elektronische Gebrauchsinformation
HLA ANTIBODY ID	Verwendungszweck: Anti-HLA Antikörper Identifizierung
IVD	In-vitro-Diagnostikum
LOT	Lot-Nr.
REF	Bestell-Nr.
SAMBUF	Probenpuffer
SUBS AB	Substrat
Testwells Abs Class I	Testwells mit gebundenen HLA Klasse I Antigenen
Testwells Abs Class II	Testwells mit gebundenen HLA Klasse II Antigenen
WASHBUF	Waschpuffer
HISTO SPOT® HLA AB Information CD	CD, enthält die Gebrauchsinformation und bei den HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits zusätzlich den Batch File