

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)
- REF** 728101: HISTO SPOT[®] HLA AB ID Class II (48 Tests)
- REF** 728102: HISTO SPOT[®] HLA AB Screen/ID Class I (480 Tests)
- REF** 728103: HISTO SPOT[®] HLA AB Screen/ID Class II (480 Tests)
- REF** 728198: HISTO SPOT[®] AB Reagent Kit (96 Tests)

Version: 11 / 2022

Stand: 2022-05

Änderungen zur Version 10 / 2020 sind orange markiert.



INHALT

1.	ZWECKBESTIMMUNG.....	2
2.	PRODUKTBESCHREIBUNG	2
3.	TESTPRINZIP	2
4.	MATERIAL	3
4.1	Inhalt der HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits für die HLA Klasse I und Klasse II.....	3
4.1.1	HISTO SPOT® AB ID Class I Kit.....	3
4.1.2	HISTO SPOT® AB ID Class II Kit.....	3
4.1.3	HISTO SPOT® AB Screen / ID Class I Kit.....	4
4.1.4	HISTO SPOT® AB Screen/ID Class II Kit	4
4.2	Inhalt des HISTO SPOT® AB Reagent Kits.....	4
4.3	Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Geräte.....	5
5.	LAGERUNG UND HALTBARKEIT	5
6.	TESTDURCHFÜHRUNG.....	5
6.1	Vorsichtsmaßnahmen und besondere Hinweise	5
6.2	Probenvorbereitung.....	6
6.3	Automatisierter Assay auf dem MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor	6
6.3.1	Reagenzienvorbereitung.....	6
6.3.2	Verdünnung der Proben / Kontrollen.....	7
6.3.3	Start des MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessors	9
6.3.4	Transfer der Ergebnisse zu einem PC für die Interpretation	9
6.3.5	Interpretation der Ergebnisse.....	9
7.	WARN- UND ENTSORGUNGSHINWEISE	10
8.	LEISTUNGSMERKMALE.....	11
8.1	Analytische Sensitivität.....	11
8.2	Diagnostische Sensitivität	11
8.3	Diagnostische Spezifität	12
8.4	Wiederholbarkeit.....	12
9.	GRENZEN DER METHODE.....	12
10.	INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE	13
11.	PROBLEMBEHANDLUNG	13
12.	VERWENDETE MARKENNAMEN.....	14
13.	ERKLÄRUNG DER SYMBOLE AUF DEN ETIKETTEN	14

1. ZWECKBESTIMMUNG

Die Zweckbestimmung der HISTO SPOT® HLA AB Screen/ID Kits ist

- das Screening und die Identifikation von anti-HLA Antikörpern bei geplanten Organtransplantationen
- das Monitoring donor-spezifischer anti-HLA Antikörper nach Organtransplantationen
- die Bestimmung von potentiellen anti-HLA Antikörpern bei Refraktärität eines Patienten vor Thrombozytentransfusionen

Die Kits sind für den Gebrauch durch Fachpersonal mit Erfahrung in der HLA Antikörperdiagnostik in folgenden Einrichtungen bestimmt:

- Transplantationszentren
- Krankenhauslabore

Die HLA Antikörperdiagnostik für Transplantationszwecke muss entsprechend den Richtlinien erfolgen, die von den Fachgesellschaften wie der European Federation for Immunogenetics (EFI), der American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI) oder nationalen Gesellschaften wie der Deutschen Gesellschaft für Immunogenetik (DGI) herausgegeben werden.

2. PRODUKTBESCHREIBUNG

Die HISTO SPOT® HLA AB Kits sind In-vitro-Diagnostika zur Identifizierung von anti-HLA Antikörpern auf einer immundiagnostischen Basis und bieten eine hohe Auflösung der Antikörper (Ab) Identifizierungsergebnisse.

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, **den Probenpuffer**, 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. **Die Testdurchführung erfolgt mit einem Microarray-Prozessor. Der MR.SPOT® / MR.SPOT® 2.0 Prozessor wurde für die automatische Abarbeitung der HISTO SPOT® Kits validiert.** Es können zwischen 1 und 96 Tests gleichzeitig bearbeitet werden. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgt mit der HISTO MATCH HLA AB Modul Software.

3. 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 Inkubationsschrift 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 von der Kamera des Microarray-Prozessors 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 anti-HLA Antikörper werden dargestellt.

4. MATERIAL

4.1 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>

4.1.1 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
SAMBUF Class I	Probenpuffer, gebrauchsfertig, enthält < 0,05% Proclin® 300 (rosafarbene Flüssigkeit)
CONTROL +	Positivkontrolle, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (roter Deckel)
CONTROL -	Negativkontrolle, gebrauchsfertig, enthält 0,04% Proclin® (gelber Deckel)

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.

4.1.2 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
SAMBUF Class II	Probenpuffer, gebrauchsfertig, enthält < 0,05% Proclin® 300 (orangefarbene Flüssigkeit)
AD 1	Additiv für den Probenpuffer, muss 1:100 in Probenpuffer verdünnt werden

CONTROL +	Positivkontrolle, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (blauer Deckel)
CONTROL -	Negativkontrolle, gebrauchsfertig, enthält 0,04% Proclin® (weißer Deckel)

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.

4.1.3 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
SAMBUF Class I	Probenpuffer, gebrauchsfertig, enthält < 0,05% Proclin® 300 (rosafarbene Flüssigkeit)
CONTROL +	Positivkontrolle, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (roter Deckel)
CONTROL -	Negativkontrolle, gebrauchsfertig, enthält 0,04% Proclin® (gelber Deckel)

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.

4.1.4 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
SAMBUF Class II	Probenpuffer, gebrauchsfertig, enthält < 0,05% Proclin® 300 (orangefarbene Flüssigkeit)
AD 1	Additiv für den Probenpuffer, muss 1:100 in Probenpuffer verdünnt werden
CONTROL +	Positivkontrolle, konzentrierte Lösung, muss verdünnt werden (blauer Deckel)
CONTROL -	Negativkontrolle, gebrauchsfertig, enthält 0,04% Proclin® (weißer Deckel)

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.

4.2 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-Peroxydase, 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.

4.3 Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Geräte

- Validierter Microarray-Prozessor
- HISTO MATCH Software [REF](#) 726102
- Pipettenspitzen für den [Microarray Prozessor](#)
- Probenplatte: PCR Platten mit Rand und passende Deckel oder PCR-Folie
- Deionisiertes Wasser
- Variable Pipetten (0,5 – 1000 µl) und Pipettenspitzen

Validierte Microarray-Prozessoren	Validierte Pipettenspitzen	Validierte Probenplatten und Verschlusssysteme
MR.SPOT® Prozessor REF 726100 Fa. BAG Diagnostics	HISTO SPOT® Pipetting Tips 1000 µl REF 726099 200 µl REF 726097 Fa. BAG Diagnostics	FrameStar® Break-A-Way PCR Plate REF 726220
MR.SPOT® 2.0 Prozessor REF 726110 Fa. BAG-Diagnostics		HISTO SPOT® PCR Caps REF 726090 HISTO SPOT®PCR Foils REF 726089 Fa. BAG Diagnostics

5. 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.

Stabilität nach dem Öffnen: 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.

Wenn die Schutzverpackung beschädigt ist, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst.

6. TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 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, [einem validierten Microarray Prozessor](#) (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 Entscheidungen 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.

6.2 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 **können** 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.

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

6.3.1 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.
- Das Additiv für den Probenpuffer **AD 1** muss für Klasse II vor dem Test 1:100 in Probenpuffer **SAMBUF Class II** verdünnt werden. Die Volumina hängen von der Anzahl zu testender Proben ab, z.B. werden für 1 ml Verdünnungspuffer 10 µL des **AD 1** zu 1 ml des **SAMBUF Class II** pipettiert.
- Die Verdünnung des **AD 1** muss für jeden Testlauf frisch angesetzt 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 **CONJBUF** 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.

6.3.2 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, die unterschiedlichen Probenpuffer und die korrekte Verteilung der Seren auf der Probenplatte zu achten.

Verdünnung der Proben:

HLA AB ID Class I:

- 10 µl Serum und 90 µl **SAMBUF Class I** in die Probenplatte pipettieren.

HLA AB ID Class II:

- das Additiv für den Probenpuffer **AD 1** 1:100 in Probenpuffer **SAMBUF Class II** verdünnen. Die Volumina hängen von der Anzahl zu testender Proben ab, z.B. werden für 1 ml Verdünnungspuffer 10 µL des **AD 1** zu 1 ml des **SAMBUF Class II** pipettiert.
- Die Verdünnung von **AD 1** muss für jeden Testlauf neu hergestellt werden.
- 2 µl Serum und 160 µl des im vorherigen Schritt angesetzten Verdünnungspuffers in die Probenplatte pipettieren.

Mindestens 5-mal mixen oder die verschlossene Probenplatte nach der Verdünnung vortexen und abzentrifugieren.

Verdünnung der Kontrollen:

In jedem Lauf sollten für jeden Assay (Klasse I und Klasse II) eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

- Vorverdünnung der Positivkontrolle (1:50):

1 µl **CONTROL +** in 50 µl **SAMBUF Class I** oder **SAMBUF Class II** verdünnen und vortexen

- Verdünnung der Kontrollen

Die Kontrollen werden in der gleichen Weise wie die Proben verdünnt:

HLA AB Class I:

10 µl **CONTROL -** NC01 bzw. verdünnte **CONTROL +** PC01 und
90 µl **SAMBUF Class I** in die Probenplatte pipettieren.

HLA AB Class II:

2 µl **CONTROL -** NC02 bzw. verdünnte **CONTROL +** PC02 und
160 µl **Verdünnungspuffer** in die Probenplatte pipettieren.

Mindestens 5-mal mixen oder die verschlossene Probenplatte nach der Verdünnung vortexen und abzentrifugieren.

Die oben angegebenen Verdünnungen der Seren (1:10 für Klasse I und 1:80 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!

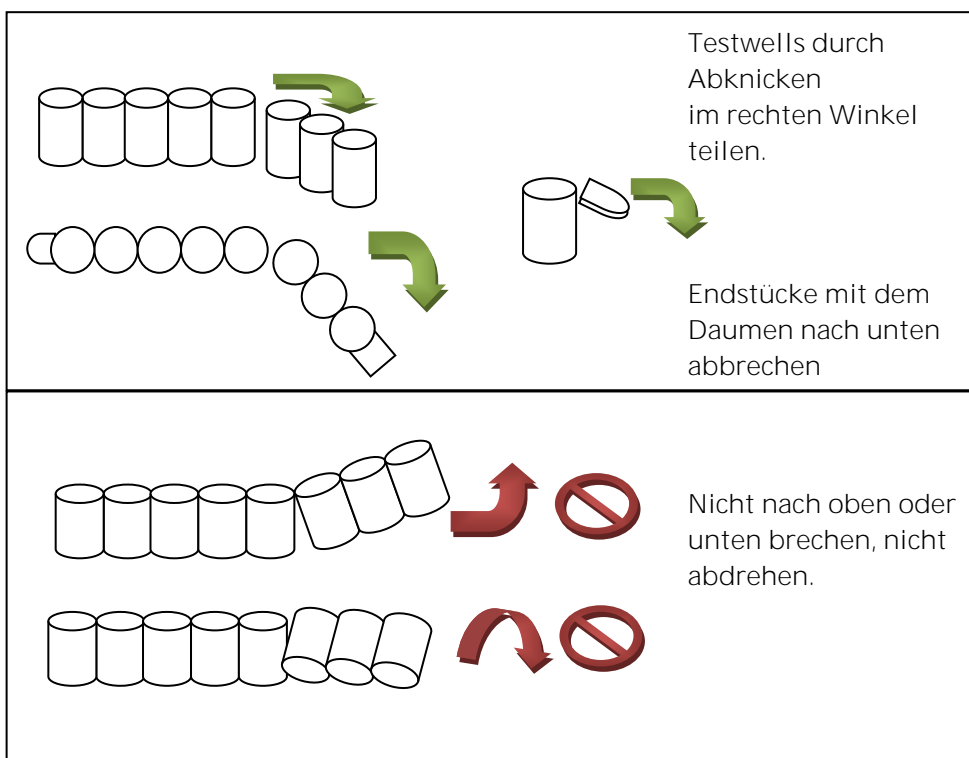


Abbildung 1:
Teststreifen teilen

6.3.3 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.

6.3.4 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.

6.3.5 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, wenden Sie sich bitte an Ihren Außendienstmitarbeiter oder an den Kundenservice unter complaint@bag-diagnostics.com) 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.

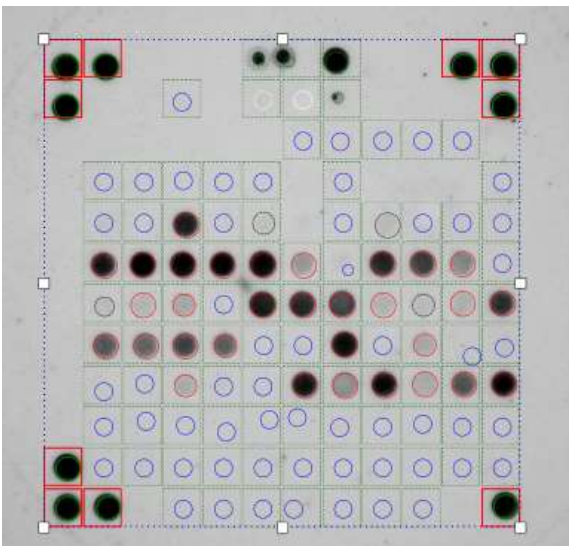


Abbildung 2: Beispiel für eine Probe mit Anti-HLA Klasse I Antikörpern.

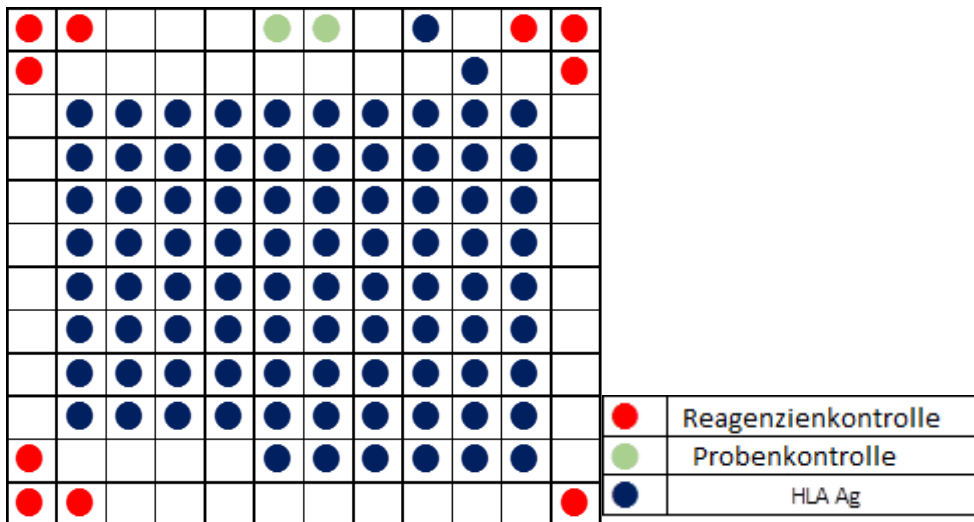


Abbildung 3: Schematische Darstellung des HISTO SPOT® HLA AB ID Class I Kits

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. 1:20 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 **Public Epitopes**)

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

7. WARN- UND ENTSORGUNGSHINWEISE

Die HISTO SPOT® HLA AB-Kits sind für den Gebrauch als In vitro Diagnostikum konzipiert und sollten 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**, **CONJ|AB**, **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.

8. LEISTUNGSMERKMALE

8.1 Analytische Sensitivität

Klasse I: Alle Antigene werden mit der Positivkontrolle (W6/32 monoklonaler Antikörper) in einer Konzentration von 0,3 ng/ml und darüber nachgewiesen.

Klasse II: Alle erwarteten Antigene werden mit der Positivkontrolle (F.3.3 monoklonaler Antikörper) in einer Konzentration von 0,3 ng/ml und darüber nachgewiesen (mit der Ausnahme des Antigens DPA1*02:02-DPB1*15:01, welches bei 1 ng/ml oder darüber nachgewiesen wird).

8.2 Diagnostische Sensitivität

Klasse I:

Nachweis von 96% der positiven Konsensuspezifitäten, die von mehr als 95% (EPT von Eurotransplant, Niederlande) der teilnehmenden Labore in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test gefunden wurden. Es wurden 59 positive Seren mit 1873 Konsensuspezifitäten getestet.

Klasse II:

Nachweis von 92% der positiven Konsensspezifitäten, die von mehr als 95% der teilnehmenden Labore (EPT von Eurotransplant - Niederlande, SFHI - Frankreich) in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test gefunden wurden. Es wurden 92 Seren mit 1239 Konsensspezifitäten getestet.

Nachweis von 100% der Spezifitäten für 4 monoklonale Antikörper mit 9 CDC Spezifitäten.

8.3 Diagnostische Spezifität

Klasse I:

92% der negativen Konsensspezifitäten, die von mehr als 95% der teilnehmenden Labore (EPT von Eurotransplant, Niederlande) in der externen Qualitätskontrolle mit einem Luminex Single Antigen Test bestimmt wurden, waren mit dem HISTO SPOT® HLA AB Class I Kit negativ. 59 Seren mit 2377 negativen Konsensspezifitäten wurden analysiert.

Klasse II:

97% der negativen Konsensspezifitäten, 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. 92 Seren wurden getestet und insgesamt 3669 negative Konsensspezifitäten analysiert.

8.4 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 Patienten-seren 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%.

9. 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 Waschschriffe verwendet werden. Deshalb sind die HISTO SPOT® HLA AB Tests nur in Kombination mit einem validierten Microarray-Prozessor (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.

10. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

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

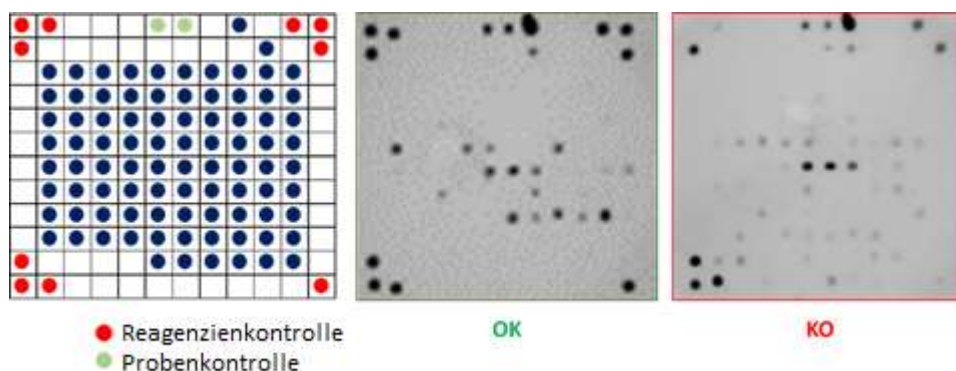


Abbildung 4: Überprüfung der Kontrollen vor der Auswertung des Tests

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.

11. 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

12. 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 Azenta Life Sciences+.

13. 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 Class I	Probenpuffer für Klasse I
SAMBUF Class II	Probenpuffer für Klasse II
AD 1	Additiv für den Probenpuffer für Klasse II
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