IT

ISTRUZIONI PER L'USO

HISTO TRAY
HLA Class II

CE 0123

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

HISTO TRAY DR 72 (10) REF **7029**

Descrizione del prodotto
La destinazione d'uso dell'**HISTO TRAY** è la tipizzazione tissutale degli antigeni HLA di classe I usando micropiastre con antisieri anti-HLA di classe I e controlli preseminati. Sono inclusi il complemento di coniglio, i fogli di lavoro per l'interpretazione e l'elenco dei risultati test.

Principio del test
Gli antisieri anti-HLA reagiscono con i corrispondenti antigeni di membrana dei linfociti umani; l'aggiunta del complemento di coniglio porta ad una modifica struttirale della membrana cellulare che diventa permeabile ad un colorante indicatore: linfociti colorati = reazione positiva. In caso di una mancata reazione antigene-anticorpo la membrana cellulare rimane intatta, non penetra il colorante indicatore e le cellule non si colorano = reazione negativa.

Procedura del test – Isolamento dei linfociti-b da per es. sangue eparinizzato
Isolamento dei linfociti B usando il metodo Immuno Beads o Immunorosettes così come la colorazione ed il fissaggio in base alle istruzioni del produttore.

Procedura del test
1. Isolare le cellule con la tecnica IMB o Immunorosettes.
2. Portare le piastre HISTO TRAY alla temperatura di 18-22° C (temperatura ambiente).
3. Mettere 1 µl di sospensione di linfociti B in ogni pozzetto preseminato. Sono necessarie circa 1000 cellule se è stata utilizzata la tecnica IMB oppure 1000 – 2000 cellule nel caso di utilizzo della tecnica Immunorosettes per l'isolamento. Per garantire una reazione sufficiente antigene-anticorpo è necessario che l'antisiero e le cellule vengano a contatto.
4. Nel caso di isolamento con tecnica IMB: Incubare alla temperatura di 18-22° C (temperatura ambiente) per 30 minuti. Nel caso di isolamento con tecnica Immunorosettes: incubare alla temperatura di 18-22° C (temperatura ambiente) per 45 minuti.
5. Aggiungere 5 µl di complemento di coniglio-arancio di acridina/etidio bromuro (1000 µl di complemento di coniglio + 20 µl colorante) in ciascun pozzetto.
6. Incubare per 60 minuti alla temperatura di 18-22° C (temperatura ambiente) al buio.
7. Aggiungere 5 µl EDTA-quenching solution (1000 µl sol. acquosa 8% EDTA + 2000 µl quenching solution).
8. Leggere l'HISTO TRAY con un microscopio a fluorescenza.

Valutazione dei risultati
La quantità dei linfociti lisati rispetto alla quantità totale dei linfociti è valutato con uno score in ogni pozzetto.

% cellule lisate			**Valutazione**
0 – 19%	=	Score 1	negativo
20 – 39%	=	Score 2	incerto negativo
40 – 59%	=	Score 4	debole positivo
60 – 79%	=	Score 6	positivo
80 – 100%	=	Score 8	forte positivo
	=	Score 0	valutazione impossibile

Soluzione dei problemi

Cause di reazioni deboli o false negative
- La contaminazione degli eritrociti può rendere difficile la valutazione al microscopio.
- Contaminazione delle piastrine.
- Quantità dei linfociti troppo alta.
- Sieri anti-HLA di colore giallo.
- Le piastre sono state scongelate e ricongelate.
- Il complemento ricostituito è stato tenuto troppo a lungo a temperatura ambiente prima dell'uso.
- Il complemento avanzato è stato congelato e scongelato nuovamente.
- I tempi di incubazione erano troppo brevi.
- La temperatura di incubazione era troppo bassa.

Cause di reazione false positive
- Cross reazioni.
- I tempi di incubazione erano troppo lunghi.
- La temperatura di incubazione era troppo alta.
- Linfociti danneggiati (il controllo negativo risulta essere positivo = forte background).
- Fallimento nell'aggiunta del fissante.

Complemento di coniglio
Sciogliere il complemento liofilizzato con 1 ml di acqua deionizzata. La ricostituzione impiega 10-15 minuti.
Il complemento ricostituito deve essere conservato al fresco (2-8° C) e usato entro 3-4 ore.
NON CONGELARE il complemento di coniglio ricostituito

Caratteristiche dell'esecuzione
Guardare l'elenco risultati HISTO TRAY per ottenere dati per la sensibilità e la specificità dei diagnostici (R-value).

Letteratura

Bodmer, J. et al., 1997. Tissue Antigens 49:297-321.

Avvertenze e precauzioni

Le **piastre HISTO TRAY** e il **complemento di coniglio** sono prodotti per solo uso diagnostico e dovrebbero essere utilizzati da personale debitamente addestrato con esperienza in istocompatibilità. Dovrebbero essere seguite le linee guida dei trapianti così come gli standard EFI, in particolare modo nei casi di risultati dubbi. Il materiale di origine umana usato per produrre questi reagenti è stato testato ed è risultato negativo per gli anticorpi HBsAg , HIV e HCV. Nonostante ciò tutti i materiali biologici usati come sangue, sieri e sieri di controllo dovrebbero essere maneggiati come potenzialmente infetti, perché non si può garantire che il materiale di origine biologica sia esente da agenti infettivi. Quando si maneggia materiale biologico si raccomandano appropriate precauzioni di sicurezza (non pipettare con la bocca, indossare i guanti mentre si maneggia materiale biologico e si esegue il test, disinfettare le mani al termine del test). Il materiale biologico dovrebbe essere inattivato prima dello smaltimento (per es. in autoclave). Il materiale monouso dovrebbe essere autoclavato o incenerito dopo l'uso. La fuoriuscita di materiale potenzialmente infetto dovrebbe essere rimosso immediatamente con carta assorbente e le aree contaminate pulite con un disinfettante standard o con etanolo al 70%. Il materiale usato per pulire , inclusi i guanti, dovrebbe essere inattivato prima dello smaltimento (per es. in autoclave). I materiali biologici dovrebbero essere inattivati prima dello smaltimento (per es. in un'autoclave). Il materiale smaltito dovrebbe essere autoclavato o incenerito dopo l'uso.
I sieri anti-HLA contengono come conservante NaN3. NaN3 è nocivo se inalato, ingerito o a contatto con la pelle e le mucose. Il reagente contiene <0,1% NaN3, concentrazione che non è considerata dannosa. Il rame e il piombo presenti in alcune tubazioni dell'acqua possono reagire con NaN3 e formare sali esplosivi. Le quantità di NaN3 in questo reagente è minima; nonostante ciò quando si utilizzano materiali di questo tipo, dovrebbero essere lavati via con grossi volumi di acqua.
Tutti i campioni e il materiale usato per eseguire i test dovrebbero essere smaltiti secondo le leggi nazionali e locali.
Per la quenching solution e arancio di acridina/etidio bromuro (AO/EB) vedere le avvertenze e le precauzioni d'uso del produttore.
Una colorazione gialla dei sieri anti-HLA anche dopo lo scongelamento, può indicare una variazione del valore di pH. Queste piastre non dovrebbero essere usate per il test.
Le schede di sicurezza sono disponibili su richiesta.
Non usare le **HISTO TRAY** e il **complemento di coniglio** oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Conservante: < 0.1% NaN_3a
Conservazione: ≤ - 20°C
Scadenza: fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta
Confezionamento: in base alle informazioni indicate sulla confezione

Spiegazione dei simboli usati sulle etichette

	Utilizzare entro		Consultare le istruzioni per l'uso
	Temperatura di conservazione	**S**	Sufficiente per n test
ANTI-HLA-SERA	Sieri anti-HLA	LOT	Codice lotto
COMPLEMENT RAB	Complemento di coniglio	LYOPH	liofilizzato
CONT	contiene	MICROTESTTRAY	Camere microtest con antisieri e controlli predispensati
CONTROL -	Controllo negativo	MONOCL	monoclonale
CONTROL +	Controllo positivo	OR	o
HLA TYPING	Destinazione d'uso: tipizzazione HLA	POLYCL	policlonale
HUM	Origine: umana	REF	Codice prodotto
IFU	Istruzioni per l'uso	WORKSHEET	Foglio di lavoro
IVD	Per uso diagnostico in vitro		

Versione: 2 / 2015 | **Pubblicata: 2015-02**

BAG

BAG Health Care GmbH
Amtsgerichtsstraße 1-5
35423 Lich/Germany
Tel.: +49 (0) 6404 / 925 - 0
Fax: +49 (0) 6404 / 925 - 250
www.bag-healthcare.com
info@bag-healthcare.com

Auftragsannahme/Ordering:
Tel.: +49 (0) 6404 / 925 - 450
Fax: +49 (0) 6404 / 925 - 460
verkauf@bag-healthcare.com

Customer Service:
Tel.: +49 (0) 6404 / 925 - 125
Fax: +49 (0) 6404 / 925 - 421
service@bag-healthcare.com