

NOTICE UTILISATEUR

HISTO TRAY

CE 0123

HLA Class II

POUR USAGE DE DIAGNOSTIC *IN VITRO*

Description du produit

HISTO TRAY est une trousse de typage tissulaire des antigènes HLA de classe II, composée de microplaques pré-aliquotées avec des sérums et contrôles anti-HLA. La trousse contient le complément de lapin, les fiches de travail pour l'évaluation et la liste des résultats de tests.

Principe du test

Les sérums anti-HLA réagissent avec les antigènes membranaires correspondants, présents sur les lymphocytes humains. L'ajout de complément de lapin provoque une modification de structure de la membrane cellulaire, qui conduit à la pénétration d'un indicateur coloré. Lymphocytes colorés = réaction positive. En cas d'absence de réaction antigène-anticorps, la membrane cellulaire reste intacte. L'indicateur coloré ne pénètre pas et les cellules restent incolores = réaction négative.

Procédure - Isolement des lymphocytes B à partir du sang hépariné

Réaliser l'isolement des lymphocytes B par la méthode des immuno-billes et utiliser les réactifs de coloration et de fixation conformément aux instructions du fabricant.

Procédure – Méthode des immuno-billes (IMB)

1. Isoler les cellules par la méthode des IMB.
2. Équilibrer les plaques **HISTO TRAY** à une température comprise entre 18°C et 22°C (température ambiante).
3. Déposer 1 µL de suspension de lymphocytes B - IMB (environ 1 000 cellules) dans chaque puits pré-aliquoté.
De manière à garantir une réaction antigène-anticorps suffisante, il est nécessaire que l'antisérum et les cellules soient en contact.
4. Incuber à une température comprise entre 18°C et 22°C (température ambiante) pendant 30 minutes.
5. Ajouter 5 µL de mélange complément de lapin - acridine orange/bromure d'éthidium (AO/EB) (1 000 µL complément de lapin + 20 µL AO/EB).
6. Incuber pendant 60 minutes à une température comprise entre 18°C et 22°C (température ambiante) à l'obscurité.
7. Ajouter 5 µL de mélange EDTA/solution d'extinction (2 000 µL solution d'extinction + 1 000 µL EDTA aqueux à 8 %).
8. Lire les plaques **HISTO TRAY** sous un microscope à fluorescence.

Mesure des résultats

La proportion de lymphocytes lysés par rapport aux lymphocytes totaux dans chaque puits est rapportée comme valeur de résultat.

| % de cellules lysées | Résultat |
|----------------------|---------------------------------|
| 0 – 19 % | = Score 1 Négatif |
| 20 – 39 % | = Score 2 Négatif douteux |
| 40 – 59 % | = Score 4 Positif faible |
| 60 – 79 % | = Score 6 Positif |
| 80 – 100 % | = Score 8 Positif fort |
| | = Score 0 Évaluation impossible |

Dépannage

Raisons possibles de réactions faussement négatives ou faibles

- Contamination par des érythrocytes, ce qui peut rendre difficile la lecture au microscope.
- Contamination par des plaquettes
- Quantité de lymphocytes trop importante
- Coloration jaune des sérums anti-HLA
- Plateaux décongelés puis recongelés
- Complément reconstitué resté trop longtemps à température ambiante avant son utilisation
- Reste de complément congelé puis décongelé
- Durées d'incubation trop courtes
- Température d'incubation trop faible

Raisons possibles de réactions faussement positives

- Réactions croisées
- Durées d'incubation trop longues
- Température d'incubation trop élevée
- Lymphocytes lésés antérieurement (le contrôle négatif est positif = « bruit de fond »)
- Oubli du fixateur

Complément de lapin

Reconstituer le complément lyophilisé dans 1 ou 5 mL d'eau distillée (selon la taille du flacon). La reconstitution nécessite 10 à 15 minutes.

Le complément reconstitué doit être conservé au froid (entre 2°C et 8°C) et doit être utilisé dans les 3 à 4 heures.

NE PAS CONGELER le complément de lapin après remise en solution.

Performances

Veillez consulter la Fiche de résultats **HISTO TRAY** qui présente les données de sensibilité et de spécificité (valeur R).

Bibliographie

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

Avertissements et précautions

Les **plaques HISTO TRAY** et le **complément de lapin** sont uniquement destinés au diagnostic *in vitro* et doivent être utilisés par du personnel correctement formé, expérimenté en analyses d'histocompatibilité. Les directives de transplantation et les normes EFI doivent être respectées, dans le cas particulier des résultats de typage douteux.

Le matériel d'origine humaine utilisé pour produire ces réactifs a été testé et trouvé négatif pour HBsAg et pour les anticorps anti-HIV et anti-HCV. Cependant, tous les matériels biologiques utilisés comme le sang, les sérums et les sérums de contrôle doivent être manipulés comme des substances potentiellement infectieuses, car aucune méthode de test ne peut garantir l'absence d'agents infectieux dans des produits d'origine biologique. Il est recommandé de respecter les précautions de sécurité adaptées pour manipuler les produits biologiques (ne pas pipeter à la bouche, utiliser des gants jetables pour manipuler les produits biologiques et réaliser le test, se désinfecter les mains une fois le test terminé).

Les produits biologiques doivent être inactivés avant leur élimination (ex. : dans un autoclave). Les produits jetables doivent être autoclavés ou incinérés après usage.

Un renversement de produits potentiellement infectieux doit être ramassé immédiatement avec du papier absorbant et les zones contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant standard adapté ou avec de l'alcool à 70 %. Les matériels utilisés pour nettoyer les renversements, y compris les gants, doivent être inactivés avant leur élimination (ex. : dans un autoclave).

Les sérums anti-HLA contiennent < 0,1% NaN₃ comme conservateur. Une concentration < 0,1 % NaN₃ n'est pas considérée comme dangereuse. Toutefois, éviter le contact des échantillons avec la peau et les membranes muqueuses. L'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb de certaines tuyauteries et former des sels explosifs. Les quantités d'azide utilisées dans cette trousse sont faibles. Cependant, laisser couler une grande quantité d'eau dans l'évier au moment d'éliminer les réactifs comportant de l'azide.

L'élimination de tous les échantillons et les matériels du test doit respecter les réglementations nationales et locales.

En ce qui concerne la solution de fixation et le mélange acridine orange/bromure d'éthidium, veuillez respecter les avertissements et les précautions des fabricants.

Une coloration jaune des sérums anti-HLA persistant après la décongélation peut être le signe d'une modification du pH. Ces plaques ne doivent **pas** être utilisées pour le test.

Les **Fiches de données de sécurité** sont disponibles sur demande.










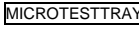




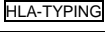




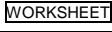

Ne pas utiliser les plaques HISTO TRAY et le Complément de lapin au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Conservateur : < 0,1 % NaN₃

Durée de conservation : jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette

Conservation : ≤ - 20°C

Conditionnement : selon les informations portées sur la trousse

| Explication des symboles utilisés sur les emballages | | | |
|---|--|--|--------------------------------|
|  | Date de péremption |  | Consulter la notice technique |
|  | Température de conservation |  | Suffisant pour <i>n</i> tests |
|  | Sérum anti-HLA |  | N° de lot |
|  | Complément de lapin |  | Lyophilisat |
|  | Contenu, contient |  | Plaque de type <i>Terasaki</i> |
|  | Contrôle nég. |  | Monoclonal |
|  | Contrôle pos. |  | Ou |
|  | Destiné à : Typage HLA |  | Polyclonal |
|  | Origine : humain |  | Code produit |
|  | Notice technique pour l'utilisateur |  | Fiche d'interprétation |
|  | Pour usage de diagnostic <i>in vitro</i> | | |

N.B. : pour les *Notices d'utilisation en d'autres langues*, veuillez utiliser ce lien :

<http://www.bag-healthcare.com/en/Diagnostika/Downloads/>

Version 01/2013