

**SR****UPUTSTVO ZA UPOTREBU****HISTO TRAY  
HLA Klase II****CE0123****ZA PRIMENU U IN VITRO DIJAGNOSTICI****Opis proizvoda**

HISTO TRAY služi za tipizaciju tkiva određivanjem HLA antigena klase II, upotrebom ploča sa već razlivenim anti-HLA serumima i kontrolama. U pakovanje su uključeni zečji komplement, radne liste za evaluaciju i listing za rezultate testiranja.

**Princip testa**

HLA antigeni reaguju sa odgovarajućim antigenima vezanim za membranu humanih limfocita. Dodavanje zečjeg komplementa rezultira strukturalnom promenom ćelijske membrane, što omogućava penetraciju indikatorske boje. Obojeni limfociti = pozitivna reakcija. U slučaju da nije došlo do reakcije antigen – antitelo, ćelijska membrana ostaje nepromenjena. Indikatorska boja ne prodire u ćeliju i ona ostaje neobojena = negativna reakcija.

**Procedura testa – izolacija B limfocita iz npr. heparinizirane krvi**

Izolacija B-limfocita upotrebom Immuno Beads metode, kao i reagensima za bojenje i fiksaciju prema instrukcijama proizvođačima.

**Procedura testa – Immuno Beads (IMB) metoda**

1. Izolujte ćelije IMB tehnikom.
2. Sačekajte da HISTO TRAY ploče dostignu temperaturu od 18-22° C (sobna temperatura).
3. Ukapajte po 1 µl suspenzije IMB-B limfocita (1.000 ćelija) u svako od polja na mikroploči sa već razlivenim serumima.  
Neophodno je da se antiserumi i ćelije dodiruju, kako bi se garantovala dovoljna reakcija antigen-antitelo.
4. Inkubirajte na temperaturi 18-22 ° C (sobna temperatura) 30 minuta.
5. Dodajte 5 µl zečjeg komplementa + akridin oranž/etidumbromid (AO/EB) (1.000 µl zečjeg komplementa + 20 µl AO/EB).
6. Inkubirajte 60 minuta na temperaturi od 18-22 ° C (sobna temperatura) u mraku.
7. Dodajte 5 µl EDTA/quenching rastvor (2.000 µl quenching rastvor 1.000 µl EDTA 8% vodeni rastvor).
8. Očitajte HISTO TRAY ploče pod fluorescentnim mikroskopom.

**Procena rezultata**

Količina liziranih limfocita upoređena sa ukupnom količinom limfocita navodi se kao vrednost ocene u svakom polju.

<b>% liziranih ćelija</b>		<b>Procena</b>
0 – 19%	= Ocena 1	negativno
20 – 39%	= Ocena 2	sumnjivo negativno
40 – 59%	= Ocena 4	slabo pozitivno
60 – 79%	= Ocena 6	pozitivno
80 – 100%	= Ocena 8	jako pozitivno
	= Ocena 0	nije moguće zaključiti

**Moгуće poteškoće u radu**

Uzroci lažno negativnih ili slabih reakcija

- Kontaminacija eritrocitima može da oteža mikroskopiranje
- Kontaminacija trombocitima
- Isuviše velika količina limfocita

- Žuta obojenje HLA antiseruma
- Ploče su bile otopljene pa ponovo zamrznute
- Rekonstituisani komplement predugo držan na sobnoj temperaturi
- Preostali komplement zamrznut pa opet otopljen
- Prekratka inkubacija
- Preniska temperatura inkubacije

Uzroci lažno pozitivnih reakcija

- Unakrsne reakcije
- Preduga inkubacija
- Previsoka temperatura inkubacije
- Ranije oštećenje limfocita (negativna kontrola je pozitivna = „background“)
- Nije dodat fiksativ

### **Zečji komplement**

Rekonstituišite liofilizirani komplement sa 1 ml ili 5 ml destilovane vode (shodno veličini pakovanja). Rekonstituisanje traje 10 – 15 minuta. Rekonstituisani komplement se mora čuvati na hladnom (2 – 8 ° C) i iskoristiti u roku od 3- 4 sata.

**NEMOJTE ZAMRZAVATI** rastvoren zečji komplement!

### **Performanse**

Podaci o dijagnostičkoj senzitivnosti i specifičnosti (R-vrednost) mogu se videti u listingu rezultata testa HISTO TRAY

### **Literatura**

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

### **Mere predostrožnosti**

HISTO TRAY ploče i zečji komplement dizajnirani su za primenu u in vitro dijagnostici i treba da ih koristi adekvatno obučeno osoblje, iskusno u testovima histokompatibilnosti. Treba da se prate vodiči za transplantaciju kao i EFI standard, naročito u slučaju sumnjivih rezultata.

Materijal humanog porekla koji je korišćen u proizvodnji ovih reagenasa pokazao se negativnim pri testiranju na HbsAg i HIV i HCV antitela. Bez obzira na to, sve biološke materijale koji se koriste, kao što su krv, serum ili kontrolni serumi, treba smatrati potencijalno infektivnim, jer nijedan metod testiranja ne može garantovati da je materijal poreklom iz bioloških izvora lišen infektivnih agenasa. Prilikom rada sa biološkim materijalom, preporučuju se prigodne mere predostrožnosti (ne pipetirajte ustima; prilikom rada sa biološkim materijalom i izvođenja testa koristite rukavice za jednokratnu upotrebu; kad završite testiranje).

Biološki materijal pre odbacivanja treba inaktivirati (npr. u autoklavu). Potrošni materijal treba nakon upotrebe autoklavirati ili spaliti. Prosut potencijalno infektivni materijal treba odmah ukloniti papirnim ubrusom i kontaminiranu površinu obrisati odgovarajućim standardnim dezinfekcionim sredstvom ili 70% alkoholom. Materijal kojim je prosut sadržaj uklanjan, uključujući rukavice, pre uklanjanja treba inaktivirati (npr. u autoklavu).

Anti-HLA serumi sadrže NaN<sub>3</sub> kao konzervans. Reagens sadrži < 0.1 % NaN<sub>3</sub> što se ne smatra štetnom koncentracijom. Ipak izbegavajte da dođe do kontakta sa kožom i sluznicama. U nekim vodoinstalacionim cevima mogu biti prisutni bakar i olovo koji sa azidima mogu reagovati i formirati eksplozivne soli. Količina azida korišćena u reagensima je mala; ipak, kada se bacaju materijali koji sadrže azide, treba ih isprati velikom količinom vode.

Uklanjanje svih uzoraka i materijala za testiranje treba da se obavlja u skladu sa lokalnim i državnim propisima. Za quenching rastvor, rastvor formaldehida i akridinoranž/etidijum bromid (AO/EB) pratite uputstva i mere predostrožnosti proizvođača.

Žuta boja anti-HLA seruma koja ostaje i nakon otapanja može ukazati na promenu pH vrednosti. Ovakve ploče **ne** treba koristiti u testiranju.





Materijal Safety Data Sheets su dostupni na zahtev.

Nemojte koristiti **HISTO TRAY ploče i zečji komplement** nakon isteka roka trajanja označenog na etiketi.

**Konzervans:** < 0.1 NaN<sub>3</sub>

**Čuvanje:** ≤ -20 ° C

**Rok trajanja:** do isteka roka trajanja navedenog na etiketi  
**Pakovanje/tipizacija:** prema informacijama naznačenom na kitu

Objašnjenje simbola na etiketama			
	temperatura čuvanja		dovoljno za n testova
	koristiti do		konsultovati uputstvo za upotrebu
<b>ANTI-HLA-SERA</b>	anti HLA serum	<b>LOT</b>	broj šarže
<b>COMPLEMENT RAB</b>	zečji komplement	<b>LYOPH</b>	liofilizirano
<b>CONT</b>	sadržaj, sadrži	<b>MICROTESTTRAY</b>	mikrotitarske ploče sa unapred razlivenim antiserumima i kontrolama
<b>CONTROL +</b>	pozitivna kontrola	<b>MONOCL</b>	monoklonsko
<b>CONTROL -</b>	negativna kontrola	<b>OR</b>	ili
<b>HLA TYPING</b>	namenjeno primeni u HLA tipizaciji	<b>POLYCL</b>	poliklonsko
<b>HUM</b>	poreklo: humano	<b>REF</b>	kataloški broj
<b>IFU</b>	uputstvo za upotrebu	<b>WORKSHEET</b>	radna lista
<b>IVD</b>	za in vitro dijagnostiku		

Verzija 1/2013

**Distributer za Srbiju: Yunycom d.o.o.**

Tel.: 011/3606-987

Fax: 011/3606-988

[office@yunycom.rs](mailto:office@yunycom.rs)



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](http://www.bag-healthcare.com)  
[info@bag-healthcare.com](mailto:info@bag-healthcare.com)

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

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