

受理号：JSZ2000062

体外诊断试剂产品注册技术审评报告

产品中文名称：HLA II 类单抗原特异性抗体检测试剂盒
(流式荧光免疫法)

产品英文（原文）名称：LABScreen Single Antigen HLA
Class II – Group 1

产品管理类别：第三类

申请人名称：望岚达公司

One Lambda, Inc.

国家药品监督管理局

医疗器械技术审评中心

目 录

基本信息.....	3
一、 申请人名称.....	3
二、 申请人住所.....	3
三、 生产地址.....	3
技术审评概述.....	4
一、 产品概述.....	4
二、 临床前研究概述	5
三、 临床评价概述.....	10
四、 产品受益风险判定.....	11
综合评价意见.....	13

基本信息

一、申请人名称

望岚达公司 One Lambda, Inc.

二、申请人住所

21001 Kittridge Street, Canoga Park, CA 91303, USA.

三、生产地址

21001 Kittridge Street, Canoga Park, CA 91303, USA.

技术审评概述

一、产品概述

(一) 产品主要组成成分

表 1 主要组成成分

组分名称	主要成分	体积
微珠溶液	包被了 HLA II 类单一抗原（39 种血清型）的微珠，阴性质控微珠，阳性质控微珠，牛血清白蛋白，葡萄糖，叠氮化钠。 包被的 39 种抗原型别如下： HLA-DR： DR1、DR10、DR103、DR11、DR12、DR13、DR14、DR15、DR16、DR17、DR18、DR4、DR51、DR52、DR53、DR7、DR8、DR9 HLA-DQ： DQ2、DQ4、DQ5、DQ6、DQ7、DQ8、DQ9 HLA-DP： DP1、DP10、DP11、DP13、DP14、DP15、DP17、DP18、DP19、DP2、DP3、DP4、DP5、DP9	125 μ L
洗涤缓冲液	磷酸盐缓冲液，吐温-20，叠氮化钠	13 mL

(二) 产品预期用途

本产品用于体外定性检测人血清样本中的 HLA II 类特异性 IgG 抗体。

本产品使用包被有纯化的 II 类 HLA 抗原的微珠和预先优化的试剂来检测人血清中的 II 类 HLA 抗体，可确认抗体特异性，以帮助移植供体受体匹配。

(三) 产品包装规格

25 测试/盒

(四) 产品检验原理

待测血清与微珠一同孵育。待测血清中存在的 HLA 抗体与微珠上的抗原相结合，然后使用藻红蛋白标记羊抗人 IgG 二抗进行标记。多功能流式点阵仪或多功能流式分析仪可以同时检测每个微珠上的藻红蛋白发射的荧光信号以及微珠染色编号，并可近乎实时获取数据。待测血清的反应模式与该批次抗原特异工作表进行比较，以确定 HLA 抗体的特异性。

二、临床前研究概述

(一) 主要原材料

1. 主要原材料的选择

本产品主要原材料包括微珠，HLA II 类抗原。其中 HLA II 类抗原为重组表达抗原。

微珠为外购，HLA II 类抗原为自制。申请人制定了各主要原材料质量要求并经检验合格。

2. 企业参考品和质控品的设置情况

申请人设计了完整的企业参考品，包括 HLA II 类抗体阳性参考品，阴性参考品，HLA I 类抗体阳性参考品。参考品采用临床样本和单克隆抗体制备而成，涵盖了本产品声称的所有 39 种 HLA II 类抗体血清型，其设置及来源见下表：

类别	设置及来源
----	-------

HLA II 类抗体阳性参考品	对大多数 HLA II 类抗原阳性的人血清及单克隆抗体
	对单个或多个 HLA II 类抗原具有特异性的人血清及单克隆抗体
	对 HLA II 类 DQ 抗原具有特异性的单克隆抗体
	对 HLA II 类 DP 抗原具有特异性的单克隆抗体
阴性参考品	对 HLA I 和 II 类抗原为阴性的人血清
HLA I 类抗体阳性参考品	对大多数 HLA I 类抗原阳性的人血清及单克隆抗体

所有参考品中相关抗体的特异性采用已上市同类产品进行确认。各项企业参考品综合用于产品企业参考品符合性等性能评估，抗原原材料特异性验证以及内部质量控制。

(二) 生产工艺及反应体系研究

申请人通过企业参考品检验等功能性试验确定最佳的生产工艺及反应体系，包括：抗原包被浓度，抗原包被孵育时间，洗涤缓冲液用量，微珠缓冲液用量，二抗用量，反应孵育条件及离心条件；同时通过检测临床样本确定最佳的样本用量以及微珠溶液用量。

(三) 分析性能评估

本产品分析性能包括企业参考品符合性、准确度、精密度、最低检测限、特异性（交叉反应、干扰试验）、包容性。申请人提交了多批产品（010、011、012、013、014 批）在适用机型上的性能评估资料。

1. 企业参考品符合性

采用企业参考品，包括 HLA II 类抗体阳性参考品，阴性参考

品，HLA I 类抗体阳性参考品对本产品进行检验，结果均符合要求。

2. 准确度

采用本产品与已上市同类产品（流式荧光免疫法）进行比较研究试验，样本涵盖本产品声称的所有 HLA II 类抗体的血清型。在第三批产品两个机型的阳性符合率为 94.2% - 99.42%，阴性符合率为 97.26% - 98.92%，总符合率为 97.13% - 98.09%，表明两种方法具有较好的一致性。

3. 精密度

采用经过其他方法验证或来自经认可的专业组织的 14 个参考样本，样本涵盖本产品声称的所有 HLA II 类抗体的血清型。在三个研究中心（One Lambda, Inc.、加州大学洛杉矶分校和 Terasaki 创新中心）的适用仪器上进行了测试。符合率为 93.46% - 97.74%，结果表明试剂性能稳定。

4. 最低检测限

选择了来自不同献血者的样本，这些样本几乎涵盖了该试剂可检测到的所有特异性抗体。在连续稀释后，对样本进行测试，并将稀释后的样本与未稀释（原）样本的结果进行比较，以评估总体一致性。考虑到原样本之间存在抗体水平/亲和力的差异，最低检测限定义为当一致性率 >90% 时的最大稀释因子。结果表明，当每个样本以 1: 2 的比例稀释时，符合本产品可接受标准。

5. 特异性

在交叉反应研究中，对含有 HLA I 类抗体，甲型流感抗体，甲型流感 H1N1（猪流感）抗体，水痘抗体，乙肝抗体，丙肝抗体，结核分支杆菌抗体，衣原体抗体，肺炎支原体抗体，巨细胞病毒抗体，EB 病毒抗体，抗核抗体，抗双链 DNA 抗体，IL-6（促炎症）抗体，类风湿因子，促甲状腺素抗体，乙酰胆碱受体抗体，CXCL10 抗体（ γ 干扰素诱导蛋白 10）的样本进行交叉反应评价，结果表明本产品与上述样本均不产生交叉反应。

在干扰试验研究中，将以下可能产生干扰的内源及外源性物质加入每个待测样本中并与该样本的未处理形式进行比较，结果显示：样本中可能存在的内源性干扰物质白蛋白（15mg/mL），D-葡萄糖（9.9mg/mL），胆红素（0.2mg/mL），胆固醇（5.031mg/mL），肌酸酐（0.05mg/mL），血红蛋白（2mg/mL），在所示浓度时对本试剂不产生干扰；外源性饮食/药物维生素 C（0.0299mg/mL），咖啡因（0.0598mg/mL），尼古丁（0.001 mg/mL），扑热息痛（0.2mg/mL），布洛芬（0.5mg/mL），利妥昔单抗（10mg/mL），水杨酸（0.000694mg/mL），在所示浓度时对本试剂不产生干扰。

6. 包容性

采用 78 个已知特异性的样本进行研究，这些样本涵盖了常见的 HLA II 类抗体分子型。结果表明，本产品具有检测出常见的不同 HLA II 类抗体型别的能力。

(四) 阳性判断值或参考区间研究

对于给定的样本，产品会为血清中存在的 HLA 抗体确定 MFI 值，通过计算对 MFI 值进行标准化确定每个抗 HLA 反应的强度，并为手动分配反应评分提供依据。同样，采集的 MFI 值可以由软件进行标准化并分配反应评分。反应评分基于国际权威组织 ASHI（美国组织相容性与免疫遗传学学会）的评分系统，该评分系统通过补体依赖性淋巴细胞毒性交叉配型试验（CDC）建立，使用细胞死亡百分比的分级量表来表示反应强度，评分 1、2、4、6 和 8 分别表示阴性、疑似阴性、弱阳性、阳性和强阳性。

在验证研究中，采用了从经认证的 HLA 实验室收集的 434 个临床样本对本产品进行了评估。这些样本由 50 多个实验室使用不同检测方式所得的测试结果汇编而来，因此可作为参考样本，其结果为共识结果。将本产品所检测结果与共识结果进行比较分析，匹配百分比为 100%。

(五) 稳定性研究

申请人对本产品在实际储存条件下保存至成品有效期后的实时稳定性、试剂开包装稳定性、运输稳定性等进行了系统的研究，确定了在各种条件下试剂的有效保存时间。所用试剂批次包括：009、010、011、014 批。

实时稳定性研究：采用三批次试剂储存于 -65°C 或以下冷冻的条件，分别在 0、4、10、16、23、39、46 个月对 HLA II 类抗

体阳性参考品，阴性参考品，HLA I 类抗体阳性参考品进行检测，确定试剂在 -65°C 或以下冷冻的条件下，可稳定保存 36 个月。

三、临床评价概述

申请人在浙江大学医学院附属第一医院、西安交通大学第一附属医院、四川大学华西医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院共四家临床机构开展了临床试验。

采用试验体外诊断试剂与已上市同类产品 HLA 特异性抗体检测试剂盒（流式细胞仪-微珠法）进行对比试验，对产品临床性能进行评价。试验共计入组 1150 例（有效例数）在移植不同阶段的受试者的血清样本，覆盖了适用的 39 种 HLA II 类抗体类型。对全部样本中所有抗体的检测结果进行对比分析，试验结果显示总阳性符合率 95.3%（95%CI: 94.5%, 95.9%），总阴性符合率 95.7%（95%CI: 95.5%, 95.9%），总符合率 95.7%（95%CI: 95.5%, 95.9%），一致性良好；针对申报产品与已上市同类产品检测结果不一致的每例样本，均进行了充分的分析，分析结果可接受。同时，对申报产品可报告的每一种 HLA-II 类抗体的检测结果分别进行一致性分析，试验结果显示阳性符合率、阴性符合率和总符合率良好。

综上所述，该产品的临床性能满足临床需求。

四、产品受益风险判定

（一）受益评估

HLA 抗体是指受体免疫系统中预先形成的循环抗体，是移植前（输血、先前移植或怀孕等）由于致敏而产生的。无论是在移植前还是移植后，如果不对针对供体器官表达的抗原的抗体进行临床干预，移植的器官将受到免疫攻击，这样会增加移植物失功和/或产生排斥反应的风险。供者特异性抗体将攻击同种异体移植物的内皮，导致随后产生抗体介导的排斥（AMR）。供者特异性抗体不断产生，与相应的临床事件共同作用，会损害同种异体移植物，随时间推移会导致产生慢性变化，并最终损害移植物的功能和存活率。

该产品用于检测 HLA 特异性抗体，其应用获益主要是有助于有效提示移植排斥风险，并辅助医生做出临床决策。

（二）风险评估

该产品检测结果会受到样本采集、储存条件等样本因素的影响，同时也受到实验操作、实验环境、试剂储存等试验因素的影响，可能导致数据质量降低或检测失败。使用者须了解检测过程中可能存在的潜在风险及检测的局限性，严格按照产品说明书中相应的要求进行操作。

（三）风险受益评价结论

根据申请人提供的申报资料，经综合评价，在目前认知水平上，认为该产品能够较大程度地满足医疗需求，预期为适用人群带来的受益大于风险。

为确保使用安全，基于对主要剩余风险的防控，在产品说明书中提示以下信息。

1. 预期用途：本产品用于体外定性检测人血清样本中的 HLA II 类特异性 IgG 抗体。

2. 检验方法的局限性：一些病人样本中的 IgG-IgM 免疫复合物的存在会导致免疫抑制。应根据实验室制定的方案流程，预先处理样本，去除免疫复合物。然而，样本不应采用加热处理，以免产生非特异性的背景值。本测试不能用作临床决策的唯一依据。

3. 其他警示及注意事项：产品说明书中介绍了该产品检验方法的局限性及使用中的注意事项。

综合评价意见

本申报项目为境外第三类体外诊断试剂产品注册，属于同品种首个产品首次申报。申请人提交的申报资料符合现行要求，依据《医疗器械监督管理条例》（国务院令第 680 号）、《体外诊断试剂注册管理办法》（原国家食品药品监督管理总局令第 5 号）等相关医疗器械法规与配套规章，经系统评价后，建议准予注册。

2023 年 06 月 26 日

附件：产品说明书

HLA II 类单抗原特异性抗体检测试剂盒(流式荧光免疫法)说明书

【产品名称】

通用名称：HLA II 类单抗原特异性抗体检测试剂盒(流式荧光免疫法)

英文名称：LABScreen Single Antigen HLA Class II - Group 1

【包装规格】

25 测试/盒

【预期用途】

本产品用于体外定性检测人血清样本中的 HLA II 类特异性 IgG 抗体。

本产品使用包被有纯化的 II 类 HLA 抗原的微珠和预先优化的试剂来检测人血清中的 II 类 HLA 抗体，可确认抗体特异性，以帮助移植供体受体匹配。

【检验原理】

待测血清与微珠一同孵育。待测血清中存在的 HLA 抗体与微珠上的抗原相结合，然后使用藻红蛋白标记羊抗人 IgG 二抗进行标记。多功能流式点阵仪或多功能流式分析仪可以同时检测每个微珠上的藻红蛋白发射的荧光信号以及微珠染色编号，并可近乎实时获取数据。待测血清的反应模式与该批次抗原特异性工作表进行比较，以确定 HLA 抗体的特异性。

【主要组成成分】

产品中包含的试剂组分

组分名称	主要成分	体积
微珠溶液	包被了 HLA II 类单一抗原（39 种血清型）的微珠，阴性质控微珠，阳性质控微珠，牛血清白蛋白，葡萄糖，叠氮化钠。 包被的 39 种抗原型别如下： HLA-DR： DR1、DR10、DR103、DR11、DR12、DR13、DR14、DR15、DR16、DR17、DR18、DR4、DR51、DR52、DR53、DR7、DR8、DR9 HLA-DQ： DQ2、DQ4、DQ5、DQ6、DQ7、DQ8、DQ9 HLA-DP： DP1、DP10、DP11、DP13、DP14、DP15、DP17、DP18、DP19、DP2、DP3、DP4、	125 μ L

	DP5、DP9	
洗涤缓冲液	磷酸盐缓冲液，吐温-20，叠氮化钠	13 mL

考虑到移液损耗，产品所提供的体积略超出检测所需的量。

需要但未提供的试剂组分

1. 藻红蛋白标记羊抗人 IgG 二抗（国械备 20190666）
2. 不含 HLA 抗体的阴性质控血清（OLI 货号 #LS-NC）
3. 已过滤的 PBS（USA Scientific 货号 #9242 (500 ml 10X)）

【储存条件及有效期】

本产品于 -65 ℃ 或以下冷冻，有效期为 36 个月。首次使用后，试剂可储存在 2~8 ℃ 保存长达 3 个月或者直到失效日期。

一旦微珠解冻，不要再次冷冻。

生产日期及失效日期见试剂包装标签。

【适用仪器】

LABScan™100（Luminex® 100/200）流式分析仪 [LABScan™100（Luminex® 100/200）主机，Luminex® XY 平台和鞘液输送系统]

或 LABScan3D™（Luminex® FLEXMAP 3D®）流式分析仪 [LABScan3D™（Luminex® FLEXMAP 3D®）主机，XY 平台和鞘液输送系统]

【样本要求】

未开封的血样在室温下最长可放置 4 天。分离的血清（来自凝血样本）冷藏时间最长可达 7 天，或分装在 -20 ℃ 或更低温度冷冻，最长可保存 36 个月，检测前再行融解。检测前，可以通过离心（8000~10000 g 共 10 分钟）或过滤（0.2 μm）将凝集物从待测血清中移除。样本的任何凝集物或污染都可能产生无效结果。

待测血清不应加热灭活，因为在测试中会导致背景值升高。

测试一般使用未稀释的血清。但如果高背景值的血清样本在检测时进行了稀释，阴性质控血清也应在相同比例下进行稀释。

【检验方法】

仪器及耗材要求

A. 要求的设备

- LABScan™ 100 (Luminex® 100/200) 流式分析仪 [LABScan™ 100 (Luminex® 100/200) 主机, Luminex® XY 平台和鞘液输送系统] 或 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪 [LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 主机, XY 平台和鞘液输送系统]
- 离心机
- 96-孔板平板转子 (1300 g)
- 涡旋混匀器
- 平板摇床或旋转平台

B. 设备校准

依据生产商的说明校准 LABScan™100 (Luminex® 100/200) 或 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪。

C. 推荐软件

HLA Fusion™(医疗器械注册证编号: , 发布版本: 4.1)

D. 需要但未提供的耗材

- 移液器枪头
- 96-孔微孔板, 250 µl, 表面未处理
- 微孔板密封膜

实验步骤

注意:

- 应特别留意分装操作。未能遵守以下所描述的步骤可能会导致试剂的损失。
- 开始检测前, 至少提前 30 分钟打开 LABScan™100 (Luminex® 100/200) 或 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪。

- 为每次测试创建相应文件名和样本编码列表。

每批测试，应测试阴性质控血清，以确定背景值。

I. 在 96 孔板中进行测试：

注意：在板的 96 孔边缘处仔细按压密封膜，将板完全密封，防止孔与孔之间交叉污染。密封膜不要反复使用。密封时每步都要使用新的密封膜。

1. 使用前轻微涡旋处理或上下抽吸数次以充分混合 LABScreen 微珠。
2. 将 5 μL LABScreen 微珠和 20 μL 待测血清添加到 96 孔微孔板的对应孔中，轻轻摇动，于 20~25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 30 分钟。
3. 用去离子水稀释 10X 洗涤缓冲液配置 1X 洗涤缓冲液。
4. 孵育后，向板内每孔添加 150 μL 的 1X 洗涤缓冲液，使用密封膜密封并涡旋混匀。在 1300 g 下离心 5 分钟。
5. 甩干或真空抽吸并去除洗涤缓冲液。
6. 向板内每孔添加 200 μL 的 1X 洗涤缓冲液，使用新密封膜密封并涡旋混匀。在 1300 g 下离心 5 分钟。
7. 甩干或真空抽吸并去除洗涤缓冲液。
8. 重复步骤 6 和步骤 7。
9. 将 99 μL 1X 洗涤缓冲液与 1 μL 100X 藻红蛋白标记羊抗人 IgG 二抗混合稀释成 1X 抗体工作液。
10. 向板内每孔添加 100 μL 1X 藻红蛋白标记羊抗人 IgG 二抗，使用密封膜密封并涡旋混匀，轻轻摇动，然后在 20~25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 30 分钟。
11. 在 1300 g 下离心 5 分钟。
12. 甩干或真空抽吸并去除洗涤缓冲液。
13. 重复步骤 6 和步骤 7 两次。
14. 向板内每孔添加 80 μL 的 1X PBS，使用新密封膜密封并涡旋混匀。读取数据并分析，或在分析前将 96 孔板避光储存于 2~8 $^{\circ}\text{C}$ ，最长可达 24 小时。

数据处理

I. 数据获取

1. 根据 Luminex 用户手册¹，设定 LABScan™ 100 (Luminex® 100/200) 或 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪，以进行样本读取和校准。
2. 根据产品试剂盒货号 and 批号选择模板。
 - a. 可以通过 CD 或公司的网页，从 One Lambda 公司获取模板。
 - b. 按照 Luminex 用户手册中数据获取章节的说明，用户可以自行创建模板。
3. 为待处理样本创建文件名。
4. 确保所有模板设置正确。模板要求为：
 - a. 设定样本量为 50 μ L。
 - b. 设定样本暂停时间为 80 秒。
 - c. 设定双重鉴别器下限为：8000；上限为：16000。
 - d. 根据随产品提供的特异性工作表设定微珠编号和 ID。
 - e. 设定每份微珠收集的最少事件为 100。
5. 输入样本 ID (如果同一样本测试超过一次，则分配不同的 ID)。
6. 将板加载于 XY 平台，并使用鞘液填充储液器。
7. 点击 START (开始) 按钮启动操作。操作完成后，将输出数据保存到一个.csv 文件。
8. 操作结束时，使用鞘液清洗机器两次。

II. 数据分析

1. 通过 LABScan 仪器读取数据时生成的文件 (.csv 文档) 中记录的每份 HLA 包被微珠的“原始”荧光值，从而计算每份测试样本的反应性。
2. 通过校正阴性质控微珠的非特异性结合和背景值 (通过测试阴性质控血清获得)，计算抗-HLA 血清反应性，以确定标准化的背景比率值 (NBG 比值)。见以下数据计算的过程。
3. 每一个 HLA 包被微珠的标准化荧光值等于该微珠的荧光强度值除以 NC 微珠的荧光强度值。

注意：荧光信号 (值) 可以是截尾均值或中位数值。

III. 数据计算

缩略语定义如下:

NBG ratio	标准化背景比率值, 用于对每个抗 HLA 反应的强度进行赋值
S#N	样本反应中#N 微珠的特异性荧光值
SNC bead	样本反应中阴性质控微珠的特异性荧光值
BG#N	阴性质控血清反应中的#N 微珠的荧光强度背景值
BGNC bead	阴性质控血清反应中阴性质控微珠的荧光强度背景值
NC Serum	经指定批次的 LABScreen 微珠确认过的阴性质控血清

计算公式:

$$\text{NBG ratio} = \frac{\text{S\#N} / \text{SNC bead}}{\text{BG\#N} / \text{BGNC bead}}$$

【阳性判断值】

确定阳性/阴性 Cut-Off 值

1. 对于本产品:

a. 检测阴性质控血清或检测几份阴性血清样本 (5~10 份未进行过输血和器官移植的男性捐献者的血清样本)

b. 确定工作范围:

$$\text{工作范围} = \text{NBG ratio 最大值} - \text{NBG ratio 最小值}$$

c. 在工作范围内定义 Cut-Off:

$$\text{NBG ratio Cut-Off} = X \% (\text{工作范围}) + \text{NBG ratio 最小值}$$

其中 X % = 用户定义的 Cut-Off 在工作范围内的百分比, 据此可设置阴性 (1)、灰区 (2)、弱阳性 (4)、阳性 (6) 和强阳性 (8)。

d. 设定标准以判定是阳性反应, 还是阴性反应, 例如:

(1) 如果 $[\text{NBG ratio 最大值} / \text{NBG ratio 最小值}] > 8$, 则采用 1c 的计算方法。

(2) 如果 $[\text{NBG ratio 最大值} / \text{NBG ratio 最小值}] < 8$, 以及

(a) NBG ratio 最大值 >5, 则 NBG ratio 最小值应调整到最大值的一半, 并根据调整后的 NBG ratio 最小值, 对 NBG ratio 的 Cut-Off 重新计算 (如 1c 所示)。

(b) NBG ratio 最大值 <5, 则微珠和待测血清的反应为阴性。评分为“1”。

e. 测试 5~10 份已知相应 HLA 抗体特异性参比的血清, 使用所得 NBG ratio, 以验证 Cut-Off 值。

(1) 根据参比血清的检测结果, 建立区分强反应和弱反应的 Cut-Off 值。

(2) 如果画出 NBG ratio 的直方图, 更有利于观察每份血清的 HLA 反应性。

2. 通过调整 Cut-Off 值可以调整检测方法的灵敏度。

3. 可选分析方法——HLA Fusion 软件。

4. 综上, 推荐使用的 Cut-Off: 评分为 6 和 8 时为阳性。

【检验结果的解释】

1. 一般原则

a. 每种微珠的计数应大于 50。如果计数低于 50, 原因有三: 一是可能在洗涤过程中丢失了微珠; 二是可能 LABScan™100 (Luminex® 100/200) 或 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪校准有误或发生堵塞; 三是荧光微珠发生光漂白而没有被计数。

b. 信号值是每一微珠对每一待测血清样本的荧光强度。应将阴性质控血清与同一批样本同时检测以设定该轮检测的背景值。

c. 建议使用 One Lambda 公司提供的阴性质控血清。

d. 阴性质控微珠 (NC) 没有包被 HLA 抗原。由于非特异结合或洗涤不充分, 对不同的血清样本其荧光强度可能会有不同。除了一些高背景的血清样本外, 一般情况下 NC 微珠的荧光强度值不超过 500。NC 微珠的荧光强度值应始终低于 1500, 并且小于或等于阳性质控微珠荧光值的一半。

e. 阳性质控微珠 (PC) 包被有纯化的人 IgG。其应与二抗结合以产生阳性信号。PC 微珠荧光值应该大于 500, 并且至少是 NC 微珠荧光值的两倍。

2. 分析的确证

a. 如果使用新的阴性质控血清, Cut-Off 值应该重新验证确认。

b. 对于任一给定血清样本, PC / NC 值应大于 2。如果该比值小于 2, 原因可能为: 该血清反应中 NC 微珠的背景值非常高; 阴性质控血清反应中 HLA 微珠的信号值比较高;

二抗信号较弱；或 LABScan™100 (Luminex® 100/200) 和 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪读数偏低。此时，应对该结果进行确认。

c. 用户应评估各自实验室的使用情况，以验证选定的 Cut-Off 值是否合适。

【检验方法的局限性】

- A. 血清样本如含有污染物或凝集物，可能会造成流式分析仪堵塞，并产生不准确的数据。检测前应用离心或过滤的方法去除样本中的凝集物。
- B. 一些病人样本中的 IgG-IgM 免疫复合物的存在会导致免疫抑制。应根据实验室制定的方案流程，预先处理样本，去除免疫复合物。然而，样本不应采用加热处理，以免产生非特异性的背景值。
- C. 环境温度可能会影响 LABScan™100 (Luminex® 100/200) 和 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 的性能。如果环境温度变化，仪器或需要重新校准。请参阅仪器使用手册以获得更多信息。
- D. LABScan™ 100 (Luminex® 100/200) 和 LABScan3D™ (Luminex® FLEXMAP 3D®) 流式分析仪必须妥善校准和维护。如果冲洗不充分，样本存在凝集物，可能会导致仪器堵塞，并且产生无效数据。
- E. 所能检测出的抗体特异性取决于试剂中每个微珠上所包被的 HLA 抗原。
- F. 由于 HLA 等位基因定义的复杂性，应由具有认证的 HLA 技术人员或专业人士审核，解释数据，和分配 HLA 抗体特异性。
- G. 本测试不能用作临床决策的唯一依据。

【产品性能指标】

- A. 使用上述的检验结果的解释中的 Cut-Off 值的解释，LABScreen 测定法给出的结果与 One Lambda FlowPRA®和 LAT™ 检测法的结果具有可比性。然而，HLA 抗体类型可能非常复杂。给定测试样本可能含有几种 HLA I 类和 II 类特异性抗体，每种均具有不同的亲和性；然而，敏感性较低的检测法并不一定能识别全部的特异性抗体。因此，每个实验室应根据其识别 HLA CREG 类型的专业能力和通过使用已知 HLA 抗体特异性的血清所进行的分析性能评估，来建立和确认自己的 Cut-Off 值。
- B. 如果背景值较高，可能表明测试期间的清洗操作不正确。阴性对照背景值较高时，所致的标准化 MFI 值可能不准确。

- C. 临床性能测试使用默认 Cut-Off 值，评分值 >4 为阳性。
- D. 准确度：与同品种产品 FlowPRA Single Antigen Class II 进行比较时，阳性符合率、阴性符合率和总符合率满足接受标准大于或等于 90%
- E. 精密度：在不同实验室间（3 个研究中心），不同仪器间（3 台不同仪器）、不同操作员间（3 名技术人员）、不同批次间（3 不同批次），不同日期间及不同运行间（20 天内进行 5 天的非连续运行，每天运行 2 次）的检测结果相互比对，符合率达到 90% 以上。
- F. 特异性：
- 为评价潜在交叉反应，检测甲型流感抗体（1.0 µg /20 µL），甲型流感 H1N1（猪流感）抗体（1.0 µg /20 µL），水痘抗体（1.0 µg /20 µL），乙肝抗体（1.0 µg /20 µL），丙肝抗体（0.1 µg /20 µL），结核分支杆菌抗体（1.0 µg /20 µL），衣原体抗体（1.0 µg /20 µL），肺炎支原体抗体（0.1 µg /20 µL），巨细胞病毒抗体（0.1 µg /20 µL），EB 病毒抗体（1.0 µg /20 µL），抗核抗体（1.0 µg /20 µL），抗双链 DNA 抗体（1.0 µg /20 µL），IL-6（促炎症）抗体（0.5 µg /20 µL），类风湿因子（0.5 µg /20 µL），促甲状腺素抗体（1.0 µg /20 µL），乙酰胆碱受体抗体（0.1 µg /20 µL），CXCL10 抗体（γ 干扰素诱导蛋白 10 (IP-10)，(1.0 µg /20 µL)）这些抗体的检测结果均为阴性。
 - HLA 抗体之间的交叉反应现象，通常称为交叉反应组（CREG）。某种 HLA 抗体的阴阳性取决于该抗体对抗原表位的反应性，而与抗体反应的抗原表位可能由多种 HLA 抗原共享。在 HLA 抗体检测领域，结合 CREG 组进行抗体反应性分析是行业共识。
- G. 干扰：
- 检测在样本中存在的可能产生干扰的物质：白蛋白（15 mg/mL），D - 葡萄糖（9.9 mg/mL），胆红素（0.2 mg/mL），胆固醇（5.031 mg/mL），肌酸酐（0.05 mg/mL），血红蛋白（2 mg/mL），维生素 C（0.0299 mg/mL），咖啡因（0.0598 mg/mL），尼古丁（0.001 mg/mL），扑热息痛（0.2 mg/mL），布洛芬（0.5 mg/mL），利妥昔单抗（10 mg/mL），水杨酸（0.000694 mg/mL），将以上可能产生干扰的物质加入每个样品中并与该样品的未处理形式进行比较，结果的符合率达到 90% 以上。

• 不同抗凝剂的影响：枸橼酸葡萄糖溶液（ACD），乙二胺钾四乙酸（K-EDTA），肝素锂，肝素钠，包含不同抗凝剂采集管中的样品与无抗凝剂（血清）的样品同时进行实验；加入抗凝剂与无抗凝剂结果的符合率达到 90% 以上。

H. 包容性：通过研究证明产品能够特异性地检测出所有包被抗原血清型和分子型对应的抗体。

I. 中国临床试验结果：本产品与已上市同类产品的总阳性符合率为 95.3% (95% CI: 94.5%,95.9%)，总阴性符合率为 95.7% (95% CI: 95.5%,95.9%)，总符合率为 95.7% (95% CI: 95.5%,95.9%)。

【注意事项】

- A. 仅用于体外诊断。
- B. 警告：所有血液制品应被视为潜在的传染性物质，本产品的原材料都按照现行的 FDA 要求进行测试，结果均为阴性。尚无方法可以保证血液制品不会成为传染源。
- C. 注意：对于人工甩板，应迅速向下甩臂而无手腕移动，以避免重复甩板。
- D. 如果稀释液中盐分在运送或存储过程中析出，配制工作稀释液前，应轻微加温以使重新溶解。

【标识的解释】



体外诊断医疗器械



注意，参阅所附文件



货号



生物危险



温度限制



批号



参考使用说明



使用期限



生产日期



生产商



欧盟授权代表

【参考文献】

1. Luminex 100 or 200 User's Manual, Luminex Corporation, PN 89-00002-00-005 or PN 89-00002-00-109
2. Luminex® FLEXMAP 3D® Hardware User Manual, Luminex Corporation PN 89-00002-00-187 Rev,B
3. R Pei, J-H Lee, T Chen, S Rojo, and PI Terasaki. Flow cytometric detection of HLA antibodies using a spectrum of microbeads. *Human Immunology* 60, 1293-1302 (1999)
4. R Pei, G Wang, C Tarsitani, S Rojo, T Chen, S Takemura, A Liu, and J-H Lee. Simultaneous HLA Class I and Class II antibodies screening with flow cytometry. *Human Immunology* 59, 313-322 (1998)
5. RA Bray, DA Sinclair, L Wimoth-Hosey, C Lyons, P Chapman and J Holcomb. Significance of the flow cytometric PRA in the evaluation of patients awaiting renal transplantation. Department of Pathology, Emory University, Atlanta, GA. ASHI abstract (1998)
6. PJ Norris, J-H Lee, DM Carrick, JL Gottschall, M Lebedeva, BR De Castro, SH Kleinman, and MP Busch. Long-term in vitro reactivity for HLA antibodies and comparison of detection using serum vs. plasma. *Transfusion* 49(2), 243-251 (2008)
7. Tambur et al., Assessing Antibody Strength: Comparison of MFI, C1q, and Titer Information, *Am J Transplant*, 2015; 15: 2421-30
8. J. Visentin et al., Deciphering Complement Interference in Anti-Human Leukocyte Antigen Antibody Detection with Flow Beads Assays, *Transplantation* 2014; 98: 625-631
9. G. Guidicelli et al., The complement interference phenomenon as a cause for sharp fluctuations of serum anti-HLA antibody strength in kidney transplant patients, *Transplant Immunology* 2013; 29: 17-21
10. J. Visentin et al., Deciphering IgM interference in IgG anti-HLA antibody detection with flow beads assays, *Hum. Immunol.* 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2016.02.008>
11. C. Breitenbach et al., Pretreatment of patient serum with fetal bovine serum (FBS) reduces non-specific background and enhances HLA antibody detection in bead and cell-based assays. *Human Immunology.* 2013; 74: 57

【基本信息】

注册人/生产企业名称: One Lambda, Inc., 望岚达公司

住所: 21001 Kittridge Street, Canoga Park, CA 91303, USA

生产地址: 21001 Kittridge Street, Canoga Park, CA 91303, USA

联系方式:

售后服务单位名称：

联系方式：

代理人的名称：赛默飞世尔科技（中国）有限公司

住所：中国（上海）自由贸易试验区德堡路 379 号 8 幢

联系方式：

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

【说明书核准日期及修改日期】