

MONOKLONAL KAN GRUPLANDIRMA REAKTİFLERİ

KULLANIM TALİMATLARI

Anti-A, Anti-B ve Anti-A,B Monoklonal: Tüp, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Mikroplaka ve Lam Teknikleri için.

ÖZET

1900'de Landsteiner, bazı insanların serumunun diğerlerinin kırmızı hücrelerini aglutine ettiğini keşfetti. Dört yaygın fenotip artık tanınmaktadır: O, A, B ve AB. A ve B alt grupları o zamandan beri tanımlanmıştır.

İleri Grup			Ters Grup				ABO Fenotip	Beyazlar % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

KULLANIM AMACI

ABO reaktifleri, bu Kullanım Talimatlarında (IFU) önerilen tekniklere uygun olarak test edildiğinde, kan donörlerinin veya kan transfüzyonuna ihtiyaç duyan hastaların kırmızı hücrelerinde A ve/veya B antijeninin varlığını veya yokluğunu kalitatif olarak belirlemek için kullanılması amaçlanan bir kan gruplandırma reaktifidir.

PRENSİP

Reaktifler, insan kırmızı hücreleri üzerinde uygun A ve/veya B antijenine karşı antikorlar içerir ve karşılık gelen ABO antijenini taşıyan kırmızı hücrelerin doğrudan aglutinasyonuna (topaklanmasına) neden olur. Aglutinasyonun olmaması genellikle insan kırmızı hücrelerinde karşılık gelen ABO antijeninin bulunmadığını gösterir (bkz. **Sınırlamalar**).

REAKTİFLER

Lorne Monoklonal IgM ABO kan gruplandırma reaktifleri, sodyum klorür, EDTA ve siğir albümini içeren bir fosfat tamponunda seyreltilmiş fare monoklonal antikorları içerir. Reaktifler, CMR maddeleri, endokrin bozucu maddeler veya kullanıca tarafından hassasiyete veya alerjik reaksiyona neden olabilecek maddeler içermez veya bunlardan oluşmaz. Her reaktif, daha fazla seyreltme veya eklemeye ihtiyaç duymadan aşağıda belirtilen tüm önerilen tekniklerle kullanım için optimum seyreltme oranında temin edilir. Lot referans numarası ve son kullanma tarihi için bkz. **Şişe Etiket**.

Ürün	Hücre Dizisi/Klonu	Renk	Kullanılan Boya
Anti-A	9113D10	Mavi	Patent Mavisi
Anti-B	9621A8	Sarı	Tartrazin
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Renksiz	Yok

SAKLAMA

Reaktif şişeleri alındıktan sonra 2 - 8°C'de saklanmalıdır. Şişeleri bu aralığın dışındaki sıcaklıklarda uzun süreli saklamak, reaktif reaktivitesinin hızla kaybolmasına neden olabilir. Bu reaktif, BS EN ISO 23640:2015 belgesinde açıklandığı gibi 37°C ve -25°C'de taşıma kararlılığı çalışmalarından geçmiştir.

NUMUNE TOPLAMA VE HAZIRLAMA

Kan numuneleri EDTA, sitrat, CPDA antikoagülanlarına veya pıhtılaşmış bir numune olarak toplanabilir. Numuneler, toplanmanın ardından mümkün olan en kısa sürede test edilmelidir. Testte bir gecikme olursa numuneleri 2-8°C'de saklayın. Tümünde hemoliz veya mikrobiyal kontaminasyon gösteren numuneler test için kullanılmamalıdır. Lizis olduğuna dair kanıt gösteren kan numuneleri güvenilir olmayan sonuçlar verebilir. Test edilmeden önce tüm kan örneklerinin PBS veya İzotonik salin ile yıkanması tercih edilir (ancak zorunlu değildir).

ÖNLEMLER

- Reaktifler, yalnızca *in vitro* teşhiste kullanım için tasarlanmıştır.
- Bir reaktif şişesi çatlaklı veya sızdırıyorsa içeriğini hemen atın.
- Son kullanma tarihi geçen reaktifleri kullanmayın (bkz. **Şişe Etiket**).
- Bir çokkelli varsa reaktifleri kullanmayın.
- Reaktifler elleçlenirken tek kullanımlık eldivenler ve laboratuvar önlüğü gibi koruyucu giysiler giyilmelidir.
- Reaktifler, biyolojik yükü azaltmak için 0,2 µm'lik bir kapsülden filtrelenmiştir, ancak steril olarak temin edilmemektedir. Bir şişe açıldıktan sonra reaktif bozulmasını veya kontaminasyonunu işaret edebilecek belirgin bir bulanıklık olmadığı sürece içindekiler son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.
- Reaktifler < %0,1 sodyum azid içerir. Sodyum azid yutulması halinde toksik olabilir ve kurşun ve bakır tesisat ile reaksiyona girerek patlayıcı metal azidler oluşturabilir. Bol su ile yıkayarak bertaraf edin.

- Bilinen hiçbir test, insan veya hayvan kaynaklı ürünlerin bulaşıcı maddeler içermediğini garanti edemez. Her şişenin ve içeriğinin kullanımı ve atılması sırasında özen gösterilmelidir.

REAKTİFİN BERTARAFI VE DÖKÜLME DURUMUNDA YAPILACAKLAR

Reaktifin bertaraf edilmesi ve dökülen bir bölgenin dekontaminasyonu hakkında bilgi için istek üzerine temin edilebilecek **Malzeme Güvenlik Veri Sayfalarına** bakın.

KONTROLLER VE ÖNERİ

- Her bir test partisiyle paralel olarak bir pozitif kontrol ve bir negatif kontrol grubunun test edilmesi önerilir. Kontroller beklenen sonuçları göstermiyorsa testler geçersiz kabul edilmelidir.
- Bu reaktifler makromoleküler güçlendirici maddeler içermediğinden, IgG kaplı hücrelerde yanlış pozitif reaksiyonlara neden olma olasılığı çok düşüktür.
- Zayıf A veya B alt gruplarının (örn. Ax) kan numuneleri, lamlar, mikrotitre plakalar veya jel kartlar kullanılarak test edildiğinde yanlış negatif veya zayıf reaksiyonlara yol açabilir. Tüp tekniği kullanılarak zayıf alt grupların tekrar test edilmesi tavsiye edilir.
- Altı aydan büyük bireylerin, kendi ABO kan grupları doğrulanmadan önce serum veya plazmalarını bilinen grup A₁ ve B hücrelerine karşı test ederek kendi ABO kan grubu sonuçlarını doğrulamaları gerekir.
- Kullanmadan önce reaktifin oda sıcaklığına ulaşana kadar ısınmasına izin verin. Reaktif kullanılır kullanılmaz reaktifi tekrar 2-8°C'de saklayın.
- Önerilen Tekniklerde**, sağlanan şişe damlalığı kullanıldığında bir hacim yaklaşık 50µl'dir.
- Reaktiflerin kullanımı ve sonuçların yorumlanması, reaktiflerin kullanıldığı ülkenin gereksinimlerine göre uygun şekilde eğitilmiş ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.
- Diğer tekniklerde kullanım için reaktiflerin uygunluğunu kullanıcı belirlemelidir.

GEREKLİ REAKTİFLER VE MALZEMELER

- Volümetrik pipetler.
- Bio-Rad ID Kartları (NaCl, enzim testi ve soğuk aglutininler).
- Bio-Rad ID-Santrifüj.
- Bio-Rad ID-CellStab veya ID-Diluent 2.
- Ortho BioVue Sistem Kasetleri (Nötr).
- Ortho BioVue Sistem Santrifüjü.
- Ortho %0,8 Kırmızı Hücre Seyreltici.
- Cam mikroskop lamaları veya beyaz kart levhaları.
- Aplikatör çubukları.
- Cam test tüpleri (10 x 75 mm veya 12 x 75 mm).
- Test tüpü santrifüjü.
- Doğrulanmış "U" çukurcuğu mikroplakaları.
- Mikroplaka santrifüjü.
- Plaka çalkalayıcı.
- PBS solüsyonu (pH 6,8-7,2) veya İzotonik salin solüsyonu (pH 6,5-7,5).
- Pozitif ve negatif kontrol kırmızı hücreleri:
Anti-A: grup A (pozitif kontrol) ve grup O (negatif kontrol).
Anti-B: grup B (pozitif kontrol) ve grup O (negatif kontrol).
Anti-A,B: grup A ve grup B (pozitif kontroller) ve grup O (negatif kontrol).

ÖNERİLEN TEKNİKLER

A. Tüp Tekniği

- PBS veya İzotonik salin içinde %2-3'lük bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
- Etiketli bir test tüpüne aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne Anti-ABO reaktif ve 1 hacim kırmızı hücre süspansiyonu.
- İyice karıştırın ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edin.
- Tüm tüpleri 10 saniye boyunca 1000 rcf'de veya uygun bir alternatif süre ve kuvvette santrifüjleyin.
- Kırmızı hücre düğmesini yavaşça yeniden süspansiyon edin ve aglutinasyon için makroskopik olarak okuyun.
- Negatif veya şüpheli sonuç gösteren tüpler, oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmelidir.
- İnkübasyonun ardından 4. ve 5. adımları tekrarlayın.

B. Bio-Rad-ID Tekniği (NaCl, enzim testi ve soğuk aglutinin kartları)

- ID-CellStab veya ID-Diluent 2'de %0,8'lik bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
- Gerektiği kadar alüminyum folyoyu mikrotüpten çıkarın.
- Uygun mikrotüpe aşağıdakileri koyun: 50µl kırmızı hücre süspansiyonu ve 25µl Lorne Anti-ABO reaktif.
- ID Kartını(Kartlarını) Bio-Rad jel kart santrifüjünde santrifüjleyin.
- Agglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.

C. Ortho BioVue Tekniği(Nötr kasetler)

1. %0,8 Ortho Kırmızı Hücre Seyrelticişi içinde %0,8'lik bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
2. Gerektiği kadar alüminyum folyoyu reaksiyon odacığından çıkarın.
3. Uygun reaksiyon haznesine şunları koyun: 50µl kırmızı hücre süspansiyonu ve 40µl Lorne Anti-ABO reaktifi.
4. Kaseti(leri) bir Ortho BioVue Sistem Santrifüjünde santrifüjleyin.
5. Aglutinasyon için makroskopik olarak okuyun.

D. Mikroplaka Tekniği, "U" çukurcukları kullanılarak

1. PBS veya İzotonik salin içinde %2-3'lük bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
2. Uygun çukurcuğa aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne Anti-ABO reaktifi ve 1 hacim kırmızı hücre süspansiyonu.
3. Çapraz çukurcuk kontaminasyonundan kaçınmaya özen göstererek tercihen bir mikroplaka çalkalayıcı kullanarak iyice karıştırın.
4. 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edin (süre kullanıcıya bağlıdır).
5. Mikroplakayı 140 rcf'de 1 dakika boyunca veya uygun bir alternatif süre ve kuvvette santrifüjleyin.
6. Bir mikroplaka çalkalayıcı kullanarak ve ajitasyona dikkat ederek hücre düğmelerini yeniden süspanse edin.
7. Makroskopik olarak veya doğrulanmış bir otomatik okuyucu ile okuyun.
8. Herhangi bir zayıf reaksiyon tüp tekniği ile tekrarlanmalıdır.

E. Lam Tekniği

1. Serum, plazma, PBS veya İzotonik salin içinde %35-45'lik bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın veya pıhtılaşması önlenmiş tam kan (kendi plazmasında) kullanın.
2. Etiketli bir cam lam veya kart levhasına aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne Anti-ABO reaktifi ve 1 hacim kırmızı hücre süspansiyonu.
3. Temiz bir aplikatör çubuğu kullanarak reaktifi ve hücreleri yaklaşık 20 x 40 mm'lik bir alan üzerinde karıştırın.
4. Lamı 30 saniye boyunca yavaşça ileri geri eğin ve 1 dakikalık süre boyunca ara sıra daha fazla karıştırarak lamı oda sıcaklığında tutun.
5. Dağınık ışıkta 1 dakika sonra makroskopik olarak okuyun ve fibrin şeritlerini aglutinasyon ile karıştırmayın.
6. Herhangi bir zayıf reaksiyon tüp tekniği ile tekrarlanmalıdır.

TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI

1. **Pozitif:** Kırmızı hücrelerin aglutinasyonu, pozitif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dâhilinde, kırmızı hücre üzerinde uygun ABO antijeninin varlığını gösterir.
2. **Negatif:** Kırmızı hücrelerde aglutinasyon olmaması, negatif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dahilinde, kırmızı hücre üzerinde uygun ABO antijeninin olmadığını gösterir.
3. **Tutarsızlıklar:** Ters grup ile elde edilen sonuçlar ileri grup ile korelasyon göstermiyorsa, daha fazla araştırma yapılması gerekir.

REAKSİYONLARIN KARARLILIĞI

1. Tüm tüp ve mikroplaka testlerini santrifüjlemeden hemen sonra okuyun.
2. Spesifikliği sağlamak ve reaktifin kuruması nedeniyle negatif bir sonucun yanlışlıkla pozitif olarak yorumlanması olasılığını önlemek için lam testleri maksimum bir dakika sonra yorumlanmalıdır.
3. Önerilen sıcaklıklar dışındaki sıcaklıklarda yapılan testlerin sonuçlarının yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır.

SINIRLAMALAR

1. ABO antijenleri doğumda tam olarak gelişmez ve bu nedenle kordon veya neonatal örneklerde daha zayıf reaksiyonlar meydana gelebilir.
2. Monoklonal Anti-A,B kullanırken zayıf A veya B alt gruplarının (örn. Ax) kan numuneleri, lamlar, mikrotitre plakalar veya jel kartlar kullanılarak test edildiğinde yanlış negatif veya zayıf reaksiyonlara yol açabilir. Tüp tekniği kullanılarak zayıf alt grupların tekrar test edilmesi tavsiye edilir.
3. Ax ve A3 veya Bx ve B3 antijenlerini saptamak için Lorne monoklonal Anti-A ve monoklonal Anti-B doğrulanmamıştır ve bu nedenle monoklonal Anti-A veya Anti-B reaktifinin bu zayıf A ve B alt-gruplar ile reaktivitesinin olacağını iddia edemiyoruz.
4. Saklanmış kan, taze kandan daha zayıf reaksiyonlar verebilir.
5. Yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar şu nedenlerle de ortaya çıkabilir:
 - Test malzemelerinin kontaminasyonu
 - Yanlış saklama, hücre konsantrasyonu, inkübasyon süresi veya sıcaklığı
 - Yanlış veya aşırı santrifüjleme
 - Önerilen tekniklerden sapma
 - Wharton jeksi ile kontamine olmuş kordon örnekleri

SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

1. Piyasaya sunulmadan önce Lorne ABO monoklonal reaktifin her lotu, bu Kullanım Talimatlarında (IFU) listelenenmiş olan önerilen test yöntemleri kullanılarak test edilmiştir. Testler, "Birleşik Krallık'ta Kan Transfüzyon Hizmetleri Yönergeleri"nin⁹ ve "Ortak Teknik Özellikler'in" güncel versiyonunda/sayısında belirtilen test gerekliliklerine uygundur.
2. Kaynak monoklonal antikorların özgülülüğu, bir antijen-negatif hücre paneli kullanılarak gösterilir.
3. Reaktiflerin gücü, Ulusal Biyolojik Standartlar ve Kontroller Enstitüsü'nden (NIBSC) alınan aşağıdaki minimum etki referans standartlarına göre test edilmiştir:
 - Anti-A referans standardı 03/188 **Ve / Veya**
 - Anti-B referans standardı 03/164

4. Lorne Anti-B, "Edinilmiş-B" kırmızı hücrelerle reaksiyona girmez.
5. Lorne Monoklonal ABO reaktifleri, T, Tn veya Cad gibi kript antijenlerini tespit etmez.
6. Reaktiflerin Kalite Kontrolü, bir Birleşik Krallık kan transfüzyon merkezi tarafından doğrulan ve kullanımdan önce PBS veya İzotonik salin ile yıkanmış olan fenotiplere sahip kırmızı hücreler kullanılarak gerçekleştirildi.

SORUMLULUK REDDİ

1. Reaktiflerin **Önerilen Tekniklerde** belirtilenler dışındaki herhangi bir yöntem ile kullanıldığında performansından kullanıcı sorumludur.
2. **Önerilen Tekniklerden** herhangi bir sapma, kullanımdan önce dođrulanmalıdır⁹.

KAYNAKÇA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

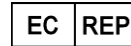
MEVCUT REAKTİF BOYUTLARI

	Şişe Boyutu	Katalog Numarası	Şişe başına test sayısı
Anti-A Monoklonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20.000
	5000 ml	600000X5*	100.000
Anti-B Monoklonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20.000
	5000 ml	610000X5*	100.000
Anti-A,B Monoklonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20.000
	5000 ml	620000X5*	100.000

*Bu boyut yalnızca ileri İmalat Kullanımı içindir (FFMU) ve bu nedenle CE işareti taşımaz.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Birleşik Krallık
Tel: +44 (0) 118 921 2264
Faks: +44 (0) 118 986 4518
E-posta: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta