

## MONOKLONAL KAN GRUPLANDIRMA REAKTİFLERİ KULLANIM TALİMATLARI

**Anti-D Klon 1 ve Klon 2 Monoklonal: Tüp, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Mikroplaka ve Lam Teknikleri için.**

### ÖZET

Rh kan grubu sistemi 1940 yılında keşfedilmiştir. D antijeni, klinik olarak en önemli ABO olmayan kırmızı kan hücresi antijenidir ve Hemolitik Transfüzyon Reaksiyonlarına ve Yenidoğanın Hemolitik Hastalığına neden olduğu gösterilmiştir.

Anti-D	Fenotip	Beyazlar % <sup>3</sup>	Afro-Amerikalılar % <sup>3</sup>
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

### KULLANIM AMACI

Anti-D reaktifleri, bu Kullanım Talimatlarında (IFU) önerilen tekniklere uygun olarak test edildiğinde, kan donörlerinin veya kan transfüzyonuna ihtiyaç duyan hastaların kırmızı hücrelerinde Rh D antijeninin varlığını veya yokluğunu kalitatif olarak belirlemek için kullanılması amaçlanan bir kan gruplandırma reaktifidir.

### PRENSİP

Reaktifler, insan kırmızı hücreleri üzerindeki D antijenine karşı antikorlar içerir ve D antijenini taşıyan insan kırmızı hücrelerinin doğrudan aglütinasyonuna (topaklanmasına) neden olur. Aglütinasyonun (topaklanmanın) olmaması genellikle insan kırmızı hücrelerinde D antijeninin bulunmadığını gösterir (bkz. **Sınırlamalar**).

### REAKTİFLER

Lorne Monoklonal IgM Anti-D Klon 1 ve Klon 2 kan gruplandırma reaktifleri, sodyum klorür (%0,9 g), siğir albümini (%2,0 g) ve makromoleküler güçlendiriciler (%1,5 g) ile seyreltilmiş bir insan monoklonal IgM antikorunu içeren düşük proteinli reaktiflerdir. Hasta numunelerini gruplandırırken, önerilen tekniklerin kullanımı sırasında varyantların çoğunluğu (D<sup>vi</sup> dışında) ve yüksek oranda zayıf D (D<sup>w</sup>) fenotipleri dâhil olmak üzere her bir reaktif Rh D pozitif hücreleri doğrudan aglütine edecektir. Reaktifler, CMR maddeleri, endokrin bozucu maddeler veya kullanıcı 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 hasta numunelerinde kullanım için optimum seyreltme oranında sağlanır. Lot referans numarası ve son kullanma tarihi için bkz. **Şişe Etiket**.

Ürün	Hücre Dizisi/Klonu
Anti-D Klon 1	RUM-1
Anti-D Klon 2	MS-201

### RHD ANTİJENİNİN ZAYIFLAMIŞ EKSPRESYONU

Kolektif D<sup>w</sup> terimi, normalden daha zayıf bir D antijeni ekspresyonuna sahip olan kırmızı hücreleri tanımlamak için yaygın olarak kullanılır. Zayıf D terimi, kırmızı hücre başına azaltılmış sayıda tam D antijen bölgesi olan bireyleri belirir. Kısmi D terimi, eksik D antijen epitoplari olan bireyleri belirir. DVI hücreleri, çoğu D epitopunun dâhil olmadığı kısmi bir D kategorisidir. Hem Klon 1 hem de Klon 2 reaktifleri, doğrudan aglütinasyon yoluyla çoğu kısmi ve zayıf D kırmızı hücre örneğini belirleyecektir, ancak DVI hücrelerini belirlemeyecektir.

### 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 kullanılmalıdır. 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* teşhisinde kullanım için tasarlanmıştır.
- Bir reaktif şişesi çatlamış veya sızdırıyorsa içeriğini hemen atın.
- Son kullanma tarihi geçen reaktifleri kullanmayın (bkz. **Şişe Etiket**).
- Bir çökelti 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 girecek patlayıcı metal azidler oluşturabilir. Bol su ile yıkayarak bertaraf edin.
- Ürünleri üretmek için kullanılan malzemeler kaynağında test edildi ve onaylı mikrobiyolojik testler kullanılarak HIV 1+2 ve HCV antikorları ve HBSAg için negatif bulundu.
- 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 partisine paralel olarak bir pozitif kontrol (ideal olarak R<sub>1r</sub> hücreleri), bir negatif kontrol (ideal olarak rr hücreleri) test edilmesi önerilir. Kontroller beklenen sonuçları göstermiyorsa testler geçersiz kabul edilmelidir.
- Kırmızı hücrelerin antikor veya diğer proteinlerle (HDN, AIHA gibi) kaplanmasına neden olan bir hastalığı olduğu teşhis edilen bir hastadan alınan kırmızı hücreleri gruplandırırken, hastanın kırmızı hücrelerinin Lorne reaktifini negatif kontrolü (Monoklonal D Negatif Kontrol) kullanılarak test edilmesi önemlidir (katalog 650010).
- Zayıf ve kısmi D antijen varyantları, jel kart, mikrotitre plakası ve lam tekniği ile yetersiz bir şekilde tespit edilir. Zayıf ve kısmi D varyantlarının tüp test tekniği kullanılarak test edilmesi önerilir.
- 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 aglütininer).
- 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" çukurcuksuz mikroplakalar.
- Mikroplaka santrifüjü.
- Plaka çalkalayıcı.
- PBS solüsyonu (pH 6,8-7,2) veya İzotonik salin solüsyonu (pH 6,5-7,5).
- Pozitif (ideal olarak R<sub>1r</sub>) ve negatif (rr) kontrol kırmızı hücreleri.

### 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-D reaktifi ve 1 hacim kırmızı hücre süspansiyonu.
- İyice karıştırın ve ardından tüm tüpleri 20 saniye 1000 rcf'de veya uygun bir alternatif süre ve kuvvette santrifüjleyin.
- Kırmızı hücre düğmesini yavaşça yeniden süspansiyon edin ve aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.
- Negatif veya şüpheli sonuç gösteren tüpler (zayıf D numunelerinde olabileceği gibi), oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmelidir.
- İnkübasyonun ardından 3. ve 4. adımları tekrarlayın.

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

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

## Ortho BioVue Tekniği (Nötr kartlar)

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

## C. Mikroplaka Tekniği, "U" çukurcuklarını kullanan

1. PBS veya İzotonik salin içinde %2-3'lük bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
2. Uygun çukurcuğa aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne Anti-D 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 çalkalayıcıda kontrollü ajitasyonu dikkatli bir şekilde kullanarak hücre düğmelerini yeniden süspansiyon edin
7. Makroskopik olarak veya doğrulanmış bir otomatik okuyucu ile okuyun.
8. Herhangi bir zayıf reaksiyon tüp tekniği ile tekrarlanmalıdır.

## D. 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 slayta veya kart levhalarına aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne Anti-D 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. Lami 30 saniye boyunca yavaşça ileri geri eğin ve 1 dakikalık süre boyunca ara sıra daha fazla karıştırarak lami 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 D antijeninin varlığını gösterir.
2. **Negatif:** Kırmızı hücrelerde aglutinasyon olmaması, negatif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dâhilinde, kırmızı hücre üzerinde D antijeninin olmadığını gösterir.
3. Reaktif negatif kontrol kullanılarak aglutine edilen hücrelerin test sonuçları hariç tutulacaktır, çünkü aglutinasyonun nedeni büyük olasılıkla reaktifteki makromoleküler güçlendiricilerin hassaslaştırılmış hücreler üzerindeki etkisidir.

## 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 bir dakika içinde yorumlanmalıdır.
3. Önerilen sıcaklıklar dışındaki sıcaklıklarda yapılan testlerin sonuçlarının yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır.

## SINIRLAMALAR

1. Lorne Anti-D, enzimle işlem görmüş hücreler, LISS'te süspansiyon edilmiş hücreler veya indirekt antiglobulin (IAT) tekniklerinde kullanım için uygun değildir.
2. Saklanmış kan, taze kandan daha zayıf reaksiyonlar verebilir.
3. AIHA, HDN gibi IgG ile hassaslaştırılmış hücreler test edilirken reaktifte makromoleküler güçlendiricilerin varlığına bağlı olarak yanlış pozitif aglutinasyon görülebilir.
4. Yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar řu nedenlerle de ortaya çıkabilir:
  - Test malzemelerinin kontaminasyonu
  - Yanlış saklama, hücre konsantrasyonu, inkübasyon süresi veya sıcaklığı
  - Yanlış veya aşırı santrifüjleme
  - Önerilen tekniklerden sapma

## SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

1. Piyasaya sunulmadan önce Lorne Anti-D monoklonal reaktifin her lotu, bu Kullanım Talimatlarında (IFU) listelenen önerilen test yöntemleri kullanılarak test edilmiştir. Testler, "Birleşik Krallık'ta Kan Transfüzyon

Hizmetleri Yönergeleri'nin ve "Ortak Teknik Özellikler'in" güncel versiyonunda/sayısında belirtilen test gerekliliklerine uygundur.

2. D grubu hastalar için anti-D gruplama reaktifleri, kullanılması önerilen yöntem(ler) kullanılarak DVI hücreleri ile reaksiyona girmemelidir.
3. Kaynak monoklonal antikörlerin özgülüğü, bir antijen-negatif hücre paneli kullanılarak gösterilir.
4. Reaktiflerin gücü, Ulusal Biyolojik Standartlar ve Kontroller Enstitüsü'nden (NIBSC) alınan aşağıdaki minimum etki referans standartlarına göre test edilmiştir:
  - Anti-D referans 99/836.
5. 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 doğrulanmalıdır.

## KAYNAKÇA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
3. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 192.
4. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995, 5, 171-184
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
6. 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

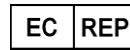
	Şişe Boyutu	Katalog Numarası	Şişe başına test sayısı
Anti-D Klon 1 Monoklonal	10 ml	730010	200
	1000 ml	730000*	20.000
	5000 ml	730000x5*	100.000
Anti-D Klon 2 Monoklonal	10 ml	710010	200
	1000 ml	710000*	20.000
	5000 ml	710000x5*	100.000

\*Bu boyut yalnızca İleri İmalat Kullanımı İçindir (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, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta