

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v04 07/2019 (tr)

Yalnızca profesyonel kullanım için

İnsan eritrositlerinde D antijeni tespiti için kan gruplama reaktifi

Genel bilgiler

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoklonal kan gruplama reaktifi (klon numarası ilgili analiz sertifikasında/serbest bırakma belgesinde ve ürün etiketinde belirtilmiştir) ilk olarak Köhler ve Milstein (Nature 1975) tarafından açıklandığı üzere stabil hibridom hücre soylarının kültür üst fazı kullanılarak hazırlanır. İnsan IgG/IgM antikoları içeren bu monoklonal reaktif, poliklonal reaktiflere güvenilir bir alternatif sağlamak için özel olarak seçilmiş ve geliştirilmiştir. Bu reaktif ilgili standart ve kılavuz gerekliliklerine uygundur. Performans özellikleri talep üzerine ürünle birlikte verilen serbest bırakma belgelerinde yer almaktadır. Testin prensibi antijen/antikör reaksiyonuna dayanan aglütinasyon tekniğidir. Reaktif, spin tüpünde veya slayt yönteminde kullanılabilir. Bu reaktif tüm normal D ve en zayıf D antijenlerini tespit eder. D varyant kategori VI test tüpünde sadece polispesifik anti-insan serumun eklenmesinden sonra tespit edilir. Her bir kan grubu tespiti serisiyle birlikte pozitif ve negatif kontrollerin dahil edilmesi önemle tavsiye edilir.

Önlemler

Sadece in vitro tanı amaçlı kullanım içindir. Reaktifler 2-8 °C'de saklanmalıdır. Sızdıran veya hasarlı şişeler kullanılamaz. Şişenin etiketinde yazan son kullanma tarihi geçmiş reaktifler (açık veya kapalı) kullanılmamalıdır. Koruyucu olarak %0,1'lik NaN₃ (a/h) kullanılır. Reaktifin enfeksiyöz ajanlar içermediği varsayılmaz. Her bir kabın ve içindekilerin kullanımına ve imhasına dikkat edilmelidir. Bulanıklık mikrobiyal kontaminasyon olduğu anlamına gelebilir. Reaktifin bozulduğunu anlamak için, reaktifin ilgili kontrollerin kullanıldığı laboratuvar kalite kontrol programının parçası olarak test edilmesi önerilir. Atık imhası, testin tamamlanmasından sonra, laboratuvar yönetmeliğinize göre gerçekleştirilmelidir.

Numune alma ve hazırlama

Kan numuneleri antikoagülanlar eklenerek veya eklenmeden aseptik olarak alınmalıdır. Kan numunelerinin testi geciktiği takdirde, numuneler 2-8 °C'de saklanmalıdır.

Numunelerin hazırlanma yöntemi ilgili test prosedürlerinde açıklanmıştır.

Test prosedürleri

Spin tüpü yöntemi

Tüp gereklilikleri: 75 x 10/12 mm boyutunda, yuvarlak dipli cam tüpler.

- İzotonik salinde veya kendi plazma veya serumlarında test edilecek eritrositlere ait %3-5'lik hücre süspansiyonu hazırlayın.
- Test tüpüne aşağıdakileri ilave edin:
 - 1 damla Pelikloon reaktifi
 - 1 damla %3-5'lik hücre süspansiyonuve iyice karıştırın.
- 1000 rcf'de 20 saniye veya santrifüj kalibrasyonuna uygun sürede santrifüjleyin.
- Hücreleri hafifçe çalkalayarak tekrar süspansiyon haline getirin ve aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.

Aglütinasyon görülüyorsa, teste şu şekilde devam edilmelidir:

- Tüpleri iyice karıştırın ve su banyosunda 37 °C'de 15-20 dakika inkübe edin.
- Hücreleri bol izotonik salinde bir kez yıkayın. Tamamen boşaltın (bir yıkama yeterlidir; geleneksel testlerde 3-4 kez yıkamanın herhangi bir zararı yoktur).
- 2 damla polispesifik anti-insan serum ilave edip, iyice karıştırın.
- 1000 rcf'de 20 saniye veya santrifüj kalibrasyonuna uygun sürede santrifüjleyin.
- Hücreleri hafifçe çalkalayarak tekrar süspansiyon haline getirin ve aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.
- Aglütinasyon görülüyorsa, 1 damla Coombs Kontrol Hücresi ekleyin ve adım 8 ve 9'u tekrarlayın. Reaksiyon artık pozitif olmalıdır. Testin negatif kalması halinde sonuç geçersiz olur ve testin tekrarlanması gerekir.

Mikroplaka yöntemi

Mikroplaka gereksinimleri: yuvarlak dipli haznelere sahip polistiren mikroplakalar.

- İzotonik salinde veya kendi plazma veya serumlarında test edilecek eritrositlere ait %2-3'lük hücre süspansiyonu hazırlayın.
- Hazneye şunları ilave edin:
 - 1 damla Pelikloon reaktifi
 - 1 damla %2-3'lük hücre süspansiyonu
- Döner çalkalayıcıyı 600-700 dev/dak'da kullanarak içeriği 5 saniye iyice karıştırın.
- Oda sıcaklığında (18-25 °C) 10-15 dakika süreyle çalkalamadan inkübe edin.
- 700 rcf'de 10-20 saniye veya santrifüj kalibrasyonuna uygun sürede santrifüjleyin.
- Haznelerdeki hücrelerin negatif reaksiyonlarla tamamen yeniden süspansiyon haline gelmesi için mikroplakayı 600-700 dev/dak'lık döner çalkalayıcı üzerinde 1-4 dakika veya gerektiği kadar tekrar çalkalayın.

7. Daha küçük aglütinatların çökmesine izin vermek için mikropalakayı 1 dakika dinlendirin.
8. Reaksiyonlar artık makroskopik olarak veya otomatik okuyucu kullanılarak okunabilir.

Yorumlama

Pozitif reaksiyon (aglütinasyon) Rh D antijen varlığını göstermektedir. Diğer teknikler nedeniyle zayıf veya negatif olan pozitif reaksiyon, zayıf veya kısmi D antijen bulunduğunu gösterir ve Rh D durumunu açıklığa kavuşturmak için ek bir tetkik yapılması önerilir. Negatif reaksiyon (aglütinasyon olmaması) Rh D antijenin bulunmadığını göstermektedir.

Ortaya Çıkma	Beyaz Irk	Siyah Irk
D antijeni	%85	%92

Kısıtlamalar

Beklenmeyen pozitif sonuçlar şunlardan kaynaklanır: psödoaglütinasyon, otoaglütinasyon, karma saha reaksiyonu, umbilikal kord hücreleriyle birlikte Wharton jeli

Beklenmeyen negatif veya zayıf sonuçlar şunlardan kaynaklanır: zayıf antijenler, karma saha reaksiyonu, reaktiflerin azalmış etkinliği.

Antijen varyant hücreleri daha önce poliklonal veya diğer hücre hatlarından elde edilen monoklonal kaynakların kan gruplama reaktifleri ile tiplendirilmiş örneklerle beklenmeyen pozitif veya negatif reaksiyonlar üretebilir.

Yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar, test malzemelerinin kontaminasyonu ya da önerilen tekniğin dışında bir tekniğin kullanılması halinde ortaya çıkabilir.

Pozitif direkt antiglobülin testine (DAT) sahip eritrositler yalancı pozitif test sonucu verir. Bu tür geçersiz test sonuçlarının tespiti için Pelikloon kontrol monoklonal kullanımı önerilmektedir.

Test edilen eritrositlerin etkin olmayan şekilde yıkanması, polispesifik anti-insan serumun halen tüpte bulunan proteinler (IgG) nedeniyle nötralizasyonundan ötürü yalancı negatif sonuçların alınmasına neden olabilir.

Pelikloon monoklonal kan gruplama reaktifleri, prospektüste tavsiye edilen tekniklerin kullanımı için optimize edilmiştir. Aksi belirtilmedikçe, diğer teknikler ile kullanım uygunlukları kullanıcı tarafından belirlenmelidir.

Referanslar

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E et al.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series,, 3rd Ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Sanquin ürünlerinin orijinal üreticinin kullanım talimatlarında açıklandığı gibi işlev göstereceği garanti edilmektedir. İlgili esaslara, test planlarına ve önerilen reaktiflere ve ekipmanlara uyum sağlanması büyük önem taşımaktadır. Aksi takdirde, Sanquin sorumluluk kabul etmeyecektir.