

İNSAN KANI GRUPLANDIRMA REAKTİFLERİ KULLANIM TALİMATLARI

Anti-Kp^a ve Anti-Kp^b Poliklonal : Dolaylı Antiglobulin Teknikleri İçin.

ÖZET

Kp^a ve Kp^b antijenleri sırasıyla 1957 ve 1958'de rapor edildi. Kell sistemi antijenleri doğumda tamamen gelişmiş olur. Anti-Kp^a ve anti-Kp^b, Hemolitik Transfüzyon Reaksiyonlarında ve Yenidoğanın Hemolitik Hastalığında rol oynamıştır.

Anti-Kp ^a	Anti-Kp ^b	Fenotip	Beyazlar ¹	Afro-Amerikalılar ¹
+	0	Kp(a+b)	Nadir	%0
+	+	Kp(a+b+)	%2,3	Nadir
0	+	Kp(a-b+)	%97,7	%100
0	0	K _o	Çok Nadir	Çok Nadir

KULLANIM AMACI

Bu reaktifler, bu Kullanım Talimatlarında (IFU) önerilen tekniklere uygun olarak test edildiğinde, kan donörlerinin veya kan transfüzyonuna ihtiyaç duyan hastaların kırmızı hücrelerinde Kp_a antijeni (KEL3) veya Kp_b antijeninin (KEL4) varlığını veya yokluğunu kalitatif olarak belirlemek için kullanılması amaçlanan bir kan gruplandırma reaktifidir.

PRENSİP

Reaktifler, insan kırmızı hücreleri üzerinde Kp_a veya Kp_b antijenine karşı antikorlar içerir ve testin antiglobulin fazında karşılık gelen Kell antijenini taşıyan insan kırmızı hücrelerinin dolaylı aglütinasyonuna (topaklaşmasına) neden olur. Aglütinasyon olmaması (topaklanma olmaması) genellikle karşılık gelen Kell antijeninin olmadığını gösterir (bkz. **Sınırlamalar**).

REAKTİFLER

Lorne İnsan Anti-Kell kan gruplandırma reaktifleri, makromoleküler güçlendirici maddeler (%1,9 g) ve siğir albümini (%4,4 g) içeren bir sodyum klorür çözeltisinde seyreltilmiş insan serumundan hazırlanır. Reaktifler, CMR maddeleri, endokrin bozucu 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 kullanım için optimum seyreltme oranında temin edilir. Lot referans numarası ve son kullanma tarihi için bkz. **Şişe Etiketi**.

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, toplamanın 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

1. Reaktifler, yalnızca *in vitro* teşhiste kullanım için tasarlanmıştır.
2. Bir reaktif şişesi çatlamış veya sızdırıyorsa içeriğini hemen atın.
3. Son kullanma tarihini geçen reaktifleri kullanmayın (bkz. **Şişe Etiketi**).
4. Bir çökelti varsa reaktifleri kullanmayın.
5. Reaktifler elleçlenirken tek kullanımlık eldivenler ve laboratuvar önlüğü gibi koruyucu giysiler giyilmelidir.
6. Reaktifler, biyolojik yükü azaltmak için 0,2 µm'lik bir kapsül den filtrelenmiştir, ancak steril olarak temin edilmemektedir. Bir şişe açıldıktan sonra içindekiler son kullanma tarihine kadar geçerli kalır.
7. Bu reaktifin ürettiği plazma artık delipide değildir, bu nedenle reaktifin bulanık bir görünüme sahip olması normaldir.
8. 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.
9. Reaktifleri üretmek için kullanılan malzemeler kaynağında test edildi ve onaylı mikrobiyolojik testler kullanılarak HIV 1+2 ve HCV antikorları ve HBsAg için negatif bulundu.
10. 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

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

KONTROLLER VE ÖNERİ

1. Her bir test partisiyle paralel olarak bir pozitif kontrol (ideal olarak heterozigot hücreleri) ve bir negatif kontrol test edilmesi önerilir. Kontroller beklenen sonuçları göstermiyorsa testler geçersiz kabul edilmelidir.
2. Antiglobulin teknikleri, yalnızca tüm negatif testler IgG ile duyarlılaştırılmış kırmızı hücrelerle pozitif reaksiyona girerse geçerli kabul edilebilir.
3. Reaktifler, IgG ile duyarlılaştırılmış hücrelerde yanlış pozitif reaksiyonlara neden olabilecek makromoleküler güçlendiriciler içerir, yanlış pozitif reaksiyonları test etmek için hastanın hücrelerinin hastanın plazmasıyla test edilmesi önerilir.
4. Kullanmadan önce reaktifin oda sıcaklığına ulaşana kadar ısınmasına izin verin. Reaktif kullanılır kullanılmaz reaktifi tekrar 2-8°C'de saklayın.
5. **Tüp Tekniğinde**, temin edilen şişe damlalığı kullanıldığında bir hacim yaklaşık 50µl'dir.
6. Reaktiflerin kullanımı ve sonuçların yorumlanması, reaktiflerin kullanıldığı ülkenin gereksinimlerine göre uygun şekilde eğitilmiş ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

GEREKLİ AMA TEMİN EDİLMEYEN REAKTİFLER VE MALZEMELER

Tüp Tekniği

- Anti-Human globülin yani Lorne AHG Elite (Cat# 435010 veya 415010) veya Anti-Human IgG yani Lorne Anti-Human IgG (Cat# 402010 veya 401010).
- Coombs hücre yıkayıcı.
- Cam test tüpleri (10 x 75 mm veya 12 x 75 mm).
- PBS solüsyonu (pH 6,8-7,2) veya İzotonik salin solüsyonu (pH 6,5-7,5).
- IgG duyarlılaştırılmış kırmızı hücreler, yani Lorne Coombs Kontrol Hücreleri (Cat no. 970010).
- Pozitif (ideal olarak heterozigot) ve negatif kontrol kırmızı hücreleri.
- 37°C ± 2°C'ye dengelenmiş su banyosu veya kuru ısı inkübatörü.

Bio-Rad-ID Mikro Sınıflandırma Tekniği

- Bio-Rad Kimlik Kartları (LISS/Coombs veya Coombs Anti-IgG).
- Bio-Rad ID-Santrifüj.
- Bio-Rad ID-CellStab veya ID-Diluent 2.
- 37°C ± 2°C'ye dengelenmiş Bio-Rad ID-Inkübatör.

Ortho BioVue Sınıflandırma Tekniği

- Ortho BioVue Sistem Kasetleri (AHG Polispesifik veya AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue Sistem Santrifüjü.
- 37°C ± 2°C'ye dengelenmiş Ortho BioVue Sistemi Isı Bloğu.
- Ortho %0,8 Kırmızı Hücre Seyreltici.

Tüm Teknikler

- Volümetrik pipetler.

ÖNERİLEN TEKNİKLER

A. Dolaylı Antiglobulin Tekniği (IAT)

1. PBS veya İzotonik salin içinde %2-3'lük bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
2. Etiketli bir test tüpüne aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne reaktif ve 1 hacim kırmızı hücre süspansiyonu.
3. İyice karıştırın ve 37°C'de 15 dakika inkübe edin.
4. Kırmızı hücreleri 4 kez PBS veya İzotonik salinle yıkayın, salini yıkamalar arasında boşaltmaya özen gösterin ve her yıkamadan sonra her kırmızı hücre düğmesini yeniden süspansiyon edin. Son yıkamadan sonra salini tamamen boşaltın.
5. Her kuru hücre düğmesine 2 hacim anti-human globulin veya anti-IgG ekleyin.
6. İyice karıştırın ve tüm tüpleri 20 saniye 1000 rcf'de veya uygun bir alternatif süre ve kuvvette santrifüjleyin.
7. Kırmızı hücre düğmesini yavaşça yeniden süspansiyon edin ve aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun

8. IgG duyarlılaştırılmış kırmızı hücreler ile tüm negatif reaksiyonların geçerli olduğunu onaylayın.

B. Bio-Rad-ID Mikro Sınıflandırma Tekniği

1. ID-CellStab veya ID-Diluent 2'de %0,8'lik bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
2. LISS/Coombs veya Coombs Anti-IgG ID kartlarındaki mikrotüplerden alüminyum folyoyu çıkarın.
3. Uygun bir mikrotüpe aşağıdakileri koyun: 50µl kırmızı hücre süspansiyonu ve 25µl Lorne reaktif.
4. ID Kartını(Kartlarını) 37°C'de 15 dakika inkübe edin.
5. ID Kartını(Kartlarını) bir Bio-Rad ID santrifüjünde santrifüjleyin.
6. Aglutinasyon için makroskopik olarak okuyun.

Ortho BioVue Sınıflandırma Tekniği

1. %0,8 Ortho Kırmızı Hücre Seyreltici içinde %0,8'lik bir kırmızı hücre süspansiyonu hazırlayın.
2. Gerekliğinde AHG Polispesifik veya AHG Anti-IgG kasetlerindeki birçok reaksiyon odacığından alüminyum folyoyu çıkarın.
3. Uygun reaksiyon odacığına aşağıdakileri koyun: 50µl kırmızı hücre süspansiyonu ve 40µl Lorne reaktif.
4. Kaseti(leri) 37°C'de 15 dakika inkübe edin.
5. Kaseti(leri) bir Ortho BioVue Sistem Santrifüjünde 5 dakika santrifüjleyin.
6. Aglutinasyon için makroskopik olarak okuyun.

TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI

1. **Pozitif:** Kırmızı hücrelerin aglutinasyonu, pozitif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dâhilinde, kırmızı hücre üzerinde uygun Kell antijeninin varlığını gösterir.
2. **Negatif:** Kırmızı hücrelerde aglutinasyon olmaması, negatif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dâhilinde, kırmızı hücre üzerinde uygun Kell antijeninin olmadığını gösterir.

REAKSİYONLARIN KARARLILIĞI

1. Yıkama adımları kesintisiz olarak tamamlanmalı ve testler santrifüjlenmeli ve reaktif eklendikten hemen sonra okunmalıdır. Gecikme, antijen-antikör komplekslerinin ayrışmasına, bu nedenle de yanlış negatif veya zayıf pozitif sonuçlara neden olabilir.
2. Önerilenler dışındaki sıcaklıklarda yapılan testlerin sonuçlarının yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır.

SINIRLAMALAR

1. IgG kaplaması nedeniyle pozitif DAT'a sahip kırmızı hücreler, **İndirekt Antiglobulin Tekniği** ile sınıflandırılmaz.
2. Düşük frekanslı antijenlere yönelik antikörler, kan grubu antiserumlarında şüpheli olmayan kontaminantlar olarak ortaya çıkabilir. Ek olarak, belirli antijenler (örn. Bg, Sd^a) kırmızı kan hücreleri üzerinde yüksek bir durumda bulunabilir. Bu fenomenler, belirli bir özgüllükte birden fazla lotta meydana gelebilecek nadir yanlış pozitif reaksiyonların kaynağı olabilir.
3. Düşük frekanslı antijenleri veya yüksek antijenleri taşıyan kırmızı hücreler her zaman test için mevcut olmadığından, kontamine edici hiçbir antikörün bulunmadığından emin olmak mümkün değildir.
4. Bunun tersine belirli kan grubu antijenlerinin bastırılmış veya azalmış ekspresyonu, yanlış negatif reaksiyonlara neden olabilir ve bu nedenle, test sonuçlarına göre genotipler atanırken her zaman dikkatli olunmalıdır.
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

SPEŞİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

1. Piyasaya sunulmadan önce her bir reaktif lotu bu Kullanım Talimatlarında (IFU) önerilen test yöntemleri kullanılarak test edilmiştir. Testler, "Birleşik Krallık'ta Kan Transfüzyon Hizmetleri Yönergeleri"nin güncel versiyonunda/sayısında belirtilen test gerekliliklerine uygundur.
2. Rastgele popülasyonda %1 veya daha yüksek insidansa sahip antijenlere karşı kontamine edici antikörlerin varlığı, uygun antijen-negatif kırmızı hücrelerin kullanıldığı testlerde veya müdahil özgüllükleri ortadan kaldırmak için daha önce emilen reaktiflerin kullanıldığı testlerde hariç tutulmuştur.
3. Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a ve V^m antikörleri, rutin özgüllük testinde hariç tutulamaz ve tespit, uygun test hücrelerinin mevcudiyetine bağlı olacaktır. Bu aynı zamanda Yt^b, M^a ve V^m ve diğer düşük frekanslı antijenler için de geçerlidir ve bunlar rutin özgüllük testlerinde hariç tutulamaz ve tespit, uygun test hücrelerinin mevcudiyetine bağlı olacaktır.
4. Reaktiflerin Kalite Kontrolü, bir Birleşik Krallık (UK) kan transfüzyon merkezi tarafından doğrulanan ve kullanımdan önce PBS veya İzotonik salin ile yıkanmış olan fenotiplere sahip kırmızı hücreler kullanılarak gerçekleştirildi.

SORUMLULUK REDDİ

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

KAYNAKÇA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
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.

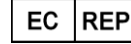
MEVCUT REAKTİF BOYUTLARI

	Şişe Boyutu	Katalog Numarası	Şişe başına test sayısı
Anti-Kp ^a Poliklonal	2 ml	321002	40
	1000 ml	321000*	20.000
Anti-Kp ^b Poliklonal	2 ml	322002	40
	1000 ml	322000*	20.000

*Bu boyut yalnızca İleri 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