



MONOKLONAL KAN GRUPLANDIRMA REAKTİFLERİ KULLANIM TALİMATLARI

Anti-Le^a Monoklonal: Tüp, Bio-Rad-ID ve Ortho BioVue Teknikleri İçin.

ÖZET

Lewis sistemi antijenleri, eritrosit membranının ayrılmaz bir parçası değildir; doku hücreleri tarafından üretilirler ve öncelikle plazmada ve sulu salgılarda bulunurlar. Eritrositler, Lewis antijenlerini, çevredeki plazmadan absorpsiyon yoluyla alırlar. Bir hücrede eksprese edilen Lewis antijeni miktarı, hücrenin ABO fenotipine göre değişiklik gösterebilir. Anti-Le^a, Yenidoğanın Hemolitik Hastalığı ile ilişkilendirilmemiştir ancak Anti-Le^a örnekleri Hemolitik Transfüzyon Reaksiyonlarına neden olmuştur.

Anti-Le ^a	Anti-Le ^b	Fenotip	Beyazlar ¹	Siyahlar ¹
+	0	Le(a+b-)	%22	%23
0	+	Le(a-b+)	%72	%55
0	0	Le(a-b-)	%6	%22
+	+	Le(a+b+)	Nadir	Nadir

KULLANIM AMACI

Bu reaktif, bu Kullanım Talimatlarında (IFU) önerilen tekniklere uygun olarak test edildiğinde, kan donörlerinin veya kan transfüzyonuna ihtiyaç duyan hastaların eritrositlerinde Le^a antijeninin (LE1) varlığını veya yokluğunu kalitatif olarak belirlemek için kullanılması amaçlanan bir kan gruplandırma reaktifidir.

PRENSİP

Bu reaktif, insan eritrositleri üzerindeki Le^a antijenine karşı antikorlar içerir ve Le^a antijenini taşıyan insan eritrositlerinin santrifüj sonrasında doğrudan aglütinasyonuna (topaklanmasına) neden olur. Aglütinasyon olmaması (topaklanma olmaması) genellikle Le^a antijeninin olmadığını gösterir (bkz. Sınırlamalar).

REAKTİFLER

Lorne Monoklonal Anti-Le^a gruplandırma reaktif; sodyum klorür, EDTA, siğir albumini ve bir makromoleküler güçlendirici (%2,5 g) içeren bir fosfat tamponunda seyreltilmiş insan monoklonal IgM antikorları içerir. Anti-Le^a, Klon P3N20V3 ile üretilmiştir. Reaktif, CMR maddeleri, endokrin bozucu maddeler veya kullanıcı tarafından hassasiyete veya alerjik reaksiyona neden olabilecek maddeler içermez veya bunlardan oluşmaz. 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 ALIMI VE HAZIRLAMA

Kan numuneleri EDTA antikoagulanı içeren tüplere alınabilir veya pıhtılaşmış bir numune olarak toplanabilir. Numuneler, alındıktan sonra mümkün olan en kısa sürede test edilmelidir. Testte bir gecikme olursa numuneleri 2-8°C'de saklayın. Belirgin 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 izotonik salin ile yıkanması önemlidir (bkz. "Sınırlamalar" bölümü).

ÖNLEMLER

- Reaktifler, yalnızca *in vitro* teşhisinde kullanım için tasarlanmıştır.
- Bir reaktif şişesi çatlamış veya sızdıyorsa içeriğini hemen atın.
- Son kullanma tarihi geçen reaktifleri kullanmayın (bkz. Şişe Etiketi).
- Çökelti varsa reaktifleri kullanmayın.
- Reaktifler ile çalışırken tek kullanımlık kaynaklı ürünlerin ve laboratuvar önlüğü gibi koruyucu giysiler giyilmelidir.
- Reaktifler, biyoyükü 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 bertarafı sırasında dikkatli olunmalıdır.

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 ve bir negatif kontrol test edilmelidir. Kontroller beklenen sonuçları göstermiyorsa testler geçersiz kabul edilmelidir.
- Eritrositlerin antikor veya diğer proteinlerle (HDN, AIHA gibi) kaplanmasına neden olan bir hastalık tanısı konulmuş bir hastadan alınan eritrositler gruplandırılırken, hastanın eritrositlerinin Lorne reaktif negatif kontrolü (Monoklonal Rh Kontrol (katalog 640010)) kullanılarak test edilmesi önemlidir.
- Kullanmadan önce reaktifin oda sıcaklığına ısınmasına izin verin. Reaktif kullanılır kullanılmaz reaktifi tekrar 2-8°C'de saklayın.
- Tüp Tekniğinde**, temin edilen şişe damlalığı kullanıldığında bir hacim yaklaşık 50µl'dir.
- Reaktifin kullanımı ve sonuçların yorumlanması, reaktifin kullanıldığı ülkenin gereksinimlerine göre uygun bir şekilde eğitilmiş ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.
- Diğer tekniklerde kullanım için reaktifin uygunluğunu kullanıcı belirlemelidir.

GEREKLİ AMA TEMİN EDİLMEYEN REAKTİFLER VE MALZEMELER

Tüp Tekniği

- Cam test tüpleri (10 x 75 mm veya 12 x 75 mm).
- 20 saniye boyunca 1000 g'de dönebilen santrifüj.
- PBS çözümü (pH 6,8-7,2) veya İzotonik salin çözümü (pH 6,5-7,5).
- Le(a+) pozitif ve Le(a-) negatif kontrol hücreleri.

Bio-Rad-ID Mikro Sınıflandırma Tekniği

- Bio-Rad ID Kartları (NaCl, Enzim testleri ve Soğuk Aglütininer).
- Bio-Rad ID-Santrifüj.
- Bio-Rad ID-CellStab veya ID-Diluent 2.

Ortho BioVue Sınıflandırma Tekniği

- Ortho BioVue Sistem Kasetleri (Nötr).
- Ortho BioVue Sistem Santrifüjü.
- Ortho %0,8 Eritrosit Seyreltici.

Tüm Teknikler

- Volümetrik pipetler.

ÖNERİLEN TEKNİK

A. Tüp Tekniği

- PBS veya İzotonik salin içinde %2-3'lük bir yıkanmış eritrosit süspansiyonu hazırlayın.
- Etiketli bir test tüpüne aşağıdakileri koyun: 1 hacim Lorne Lewis reaktif ve 1 hacim eritrosit süspansiyonu.
- İyice karıştırın ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edin.
- Tüm tüpleri 20 saniye boyunca 1000 rcf'de veya uygun bir alternatif süre ve kuvvette santrifüjleyin.
- Eritrosit düğmesini yavaşça yeniden süspansiyon edin ve aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.

B. Bio-Rad-ID Mikro Sınıflandırma Tekniği

- ID-Cellstab veya ID-Diluent 2 içinde %0,8'lik bir yıkanmış eritrosit süspansiyonu hazırlayın.
- NaCl/Enzim/Soğuk aglütinin ID-Kartı üzerindeki mikrotüplerden, ihtiyaç duyulan kadarının alüminyum folyosunu çıkarın.
- Uygun mikrotüpe aşağıdakileri koyun: 50µl %0,8 eritrosit süspansiyonu ve 25µl Lorne reaktif.
- ID Kart(lar)ını oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edin.
- ID Kart(lar)ını bir Bio-Rad ID santrifüjünde santrifüjleyin.
- Aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.

C. Ortho BioVue Sınıflandırma Tekniği

- %0,8 Ortho Eritrosit Seyreltici içinde %0,8'lik bir yıkanmış eritrosit süspansiyonu hazırlayın.
- Nötr kasetteki reaksiyon haznelerinden, ihtiyaç duyulan kadarının alüminyum folyosunu çıkarın.
- Uygun reaksiyon haznesine aşağıdakileri koyun: 50µl eritrosit süspansiyonu ve 40µl Lorne reaktif.
- Kaset(ler)i oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edin.
- Kaset(ler)i bir Ortho BioVue Sistem Santrifüjünde santrifüjleyin.
- Aglütinasyon için makroskopik olarak okuyun.

TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI

- Pozitif:** Eritrositlerin aglütinasyonu, pozitif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dâhilinde, eritrosit üzerinde Le^a antijeninin varlığını gösterir.

2. **Negatif:** Eritrositlerde aglütinasyon olmaması, negatif test sonucu anlamına gelir ve test prosedürünün kabul edilen sınırlamaları dâhilinde, eritrosit üzerinde Le^a antijeninin olmadığını gösterir.
3. **Kontrol:** Reaktif negatif kontrol kullanılarak aglütine edilen hücrelerin test sonuçları hariç tutulacaktır, çünkü aglütinasyonun nedeni büyük olasılıkla reaktifteki makromoleküler güçlendiricilerin hassaslaştırılmış hücreler üzerindeki etkisi olacaktır.

REAKSİYONLARIN KARARLILIĞI

1. Tüp testleri santrifüjlemeden hemen sonra okunmalıdır. Gecikme, antijen-antikor komplekslerinin ayrışmasına neden olabilir ve bu da yanlış negatif veya zayıf pozitif reaksiyonlarla sonuçlanabilir.
2. Önerilen sıcaklıklar dışındaki sıcaklıklarda yapılan testlerin sonuçlarının yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır.

SINIRLAMALAR

1. Lewis antijenleri plazmada bulunduğundan, Lorne Lewis reaktifleri yalnızca fizyolojik salin içinde süspansiyon edilmiş yıkanmış eritrositlerle kullanılmalıdır. Mevcut çözünür antijen, test reaktifini nötralize ederek yanlış negatif sonuçlar verebileceğinden, plazma/serum içinde süspansiyon edilmiş hücreler **kullanılamaz**.
2. Bazı numuneler fare monoklonal Anti-Le^a ile direkt antiglobülin testlerinde zayıf pozitif reaksiyonlar üretse de çoğu yenidoğanın eritrositleri monoklonal veya insan anti-Lewis reaktifleri ile Le(a-b-) sonucu verecektir.
3. Altı yaşın altındaki çocukların Lewis fenotipleri doğru bir şekilde belirlenemez. Gebelik sırasında eritrosit Lewis antijenleri daha zayıftır.
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

SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

1. Piyasaya arz edilmeden önce her bir reaktif lotu bu Kullanım Talimatlarında (IFU) listelenmiş olan önerilen test yöntemleri kullanılarak test edilmiştir. Testler, "Birleşik Krallık'ta Kan Transfüzyon Hizmetleri Yönergeleri"nin güncel versiyonunda/sayısında belirtilen test gerekliliklerine uygundur.
2. Kaynak Monoklonal antikorların özgüllüğü, bir antijen-negatif hücre paneli kullanılarak gösterilir.
3. Reaktiflerin Kalite Kontrolü, bir Birleşik Krallık (UK) kan transfüzyon merkezi tarafından doğrulanan ve kullanımdan önce PBS veya İzotonik salin ile yıkanmış olan fenotiplere sahip eritrositler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

SORUMLULUK REDDİ

1. **Önerilen Teknikte** belirtilenler dışındaki herhangi bir yöntem ile kullanıldıklarında reaktiflerin performansından son kullanıcı sorumludur.
2. **Önerilen Teknikten** herhangi bir sapma, kullanımdan önce doğrulanmalıdır⁶.

KAYNAKÇA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Sayfa 189.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. Baskı. Montgomery Scientific, Miami 1985; Bölüm 7.
3. AABB Technical Manual, 16. Baskı, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6. Baskı 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

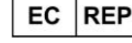
	Şişe Boyutu	Katalog Numarası	Şişe başına test sayısı
Anti-Le ^a Monoklonal	2 ml	632002	40

SEMBOLLER TABLOSU

Sembol	Tanım	Sembol	Tanım
	Üretici		Katalog numarası
	Sıcaklık sınırlaması		YYYY-AA-GG son kullanım tarihi
	İn vitro tıbbi tanı cihazı		Kullanım talimatlarına bakın.
	Yetkili Temsilci		Lot numarası
	CE sembolü ve Onaylanmış Kuruluşun doğrulaması		



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