

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

ANTI-A
ANTI-B
ANTI-A,B

ÖZET

Monoklonal antikorlar, fare antikor üreten B lenfositlerinin fare miyelom hücreleriyle birleştirilmesiyle oluşturulan hibridoma hücre hatlarından türetilir. Her hibridoma hücre hattı, kimyasal yapıları ve immünolojik aktiviteleri bakımından aynı olan yalnızca bir immünoğlobulin sınıfından homojen antikorlar üretir. İnsan kırmızı kan hücresi antijenleri, kırmızı kan hücrelerinde karşılık gelen antijenlerin varlığına veya yokluğuna bağlı olarak A, B, A, B ve O olmak üzere dört gruba ayrılabilir. Kafkas ırkı nüfusunun yaklaşık %41'inde A antijeni, %9'unda B antijeni, %4'ünde hem A hem de B antijenleri bulunurken, geri kalanında ne A ne de B antijeni bulunur.

REAKTİF

Anti-A, Anti-B ve Anti-A,B, fare hibridoma hücre kültürlerinin üst sıvılarından hazırlanan kullanıma hazır reaktiflerdir. İmmünoğlobulin sınıfı IgM olan bu antikorlar, aynı özgüllüğe sahip ancak insan kırmızı kan hücresi antijenleri A ve B'nin farklı epitoplarını tanıma kapasitesine sahip birkaç monoklonal antikorun karışımıdır. Her bir reaktif partisi, özgüllüğü, aviditesi ve performansı açısından üretim sürecinin çeşitli aşamalarında sıkı kalite kontrolünden geçer.

REAKTİF SAKLAMA VE STABİLİTE

1. Reaktifi 2-8°C'de saklayın. DONDURMAYIN.
2. Reaktifin raf ömrü, reaktif şişesi etiketinde belirtilen son kullanma tarihine uygundur.

PRENSİP

A ve/veya B antijeni taşıyan insan kırmızı kan hücreleri, antijene yönelik antikor varlığında aglütine olur. Kırmızı kan hücrelerinin Anti-A, Anti-B, Anti-A,B reaktifleriyle aglütinasyonu pozitif bir test sonucu olup, ilgili antijenin varlığını gösterir. Kırmızı kan hücrelerinin Anti-A, Anti-B ve Anti-A,B reaktifleriyle aglütinasyonunun olmaması negatif test sonucu olup, ilgili antijenin bulunmadığını gösterir.

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

NOT

1. Sadece laboratuvar ve profesyonel kullanım için in vitro tanı reaktifidir. Tıbbi amaçlı değildir.
2. Reaktif, koruyucu olarak %0,1 sodyum azit içerir. Cilt ve mukoza ile temasından kaçınınız. Atarken bol su ile yıkayınız.
3. Aşırı bulanıklık, mikrobiyal kontaminasyona veya termal hasara bağlı protein denatürasyonuna işaret edebilir. Bu tür reaktifler atılmalıdır.
4. Reaktifler insan kaynaklı olmadığından, HBsAg, HIV ve HCV kaynaklı kontaminasyon pratik olarak mümkün değildir.

ÖRNEK TOPLAMA VE HAZIRLAMA

Onaylı tekniklerle numune alımı öncesinde hastanın özel bir hazırlığa gerek yoktur. Hemen test edilmeyecekse, numuneler 2-8°C'de saklanmalıdır. Hemolizli numuneler kullanılmamalıdır. Çeşitli antikoagülanlar kullanılarak antikoagüle edilmiş kan, aşağıda belirtilen süre içinde test edilmelidir:

EDTA veya HEPARIN	2 gün
Sodyum sitrat veya sodyum oksalat	14 gün
ACD veya CPD	28 gün

SLAYT VE TÜP TESTLERİ İÇİN GEREKLİ EK MALZEMELER

Cam slaytlar (60 x 85 mm), Test tüpleri (12 x 75 mm), Pasteur pipetleri, İzotonik tuzlu su, Santrifüj, Zamanlayıcı, Karıştırma çubukları.

TEST PROSEDÜRÜ

Testten önce reaktifleri ve numuneleri oda sıcaklığına getirin.

Slayt Testi

1. Temiz bir cam lama ayrı ayrı damlalık kullanarak bir damla veya 50 µl Anti-A, Anti-B veya Anti-A,B reaktif damlatın.
2. Her bir reaktif damlasına bir damla veya 25 µl tam kan ekleyin.
3. Yaklaşık 2,5 cm²'lik bir alanda karıştırma çubuğuyla iyice karıştırın.
4. Lami yavaşça ileri geri sallayın.
5. Üç dakika sonra makroskobik olarak aglütinasyon olup olmadığını gözlemleyin.

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

Özgüllük ve duyarlılık Anti A (IgM)	Test RBC	Tanımlama	Sonuçlar
	A1	Pozitif	Pozitif
	A2	Pozitif	Pozitif
	A2B	Pozitif	Pozitif
	B	Negatif	Negatif
	0	Negatif	Negatif

Özgüllük ve duyarlılık Anti B (IgM)	Test RBC	Tanımlama
	B	Pozitif
	A1B	Pozitif
	A1	Negatif
	0	Negatif

Tüp Testi

1. İzotonik salin içinde test edilecek kırmızı kan hücrelerinin %5'lik bir süspansiyonunu hazırlayın.
2. Reaktif damlalığını kullanarak ilgili etiketli test tüplerine bir damla Anti-A, Anti-B veya Anti-A,B reaktifi damlatın.
3. Her bir test tüpüne bir damla veya 50 µl kırmızı kan hücresi süspansiyonu pipetleyin ve iyice karıştırın.
4. 1000 RPM'de (125 g) bir dakika veya 3400 RPM'de (1000 g) 20 saniye santrifüjleyin.
5. Hücre düşmesini yavaşça tekrar süspansiyon edin ve makroskopik olarak aglütinasyon olup olmadığını gözlemleyin.

SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Lam ve tüp testleri

Aglütinasyon pozitif bir test sonucudur ve A ve/veya B antijeninin varlığını gösterir. Periferik kuruma veya fibrin iplikçiklerini aglütinasyon olarak yorumlamayın. Aglütinasyon olmaması negatif bir test sonucudur ve A ve/veya B antijeninin yokluğunu gösterir.

NOT

1. (a) Anti-A, Anti-B ve Anti-A,B reaktifleri, kript antijenleriyle (T, Tn, Tk aktive hücreler) reaksiyon göstermez.
(b) Anti-B, edinilmiş B özellikleriyle reaksiyona girerek gerçekten negatiftir.

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

2. Tüp testi işleminde zayıf antijenlerin gözden kaçırılmaması için negatif reaksiyon veren tüplerin tekrar santrifüj edilmesi ve sonuçların 5 dakika sonra tekrar okunması önerilir.
3. Az veya çok santrifüjleme hatalı sonuçlara yol açabileceğinden, her laboratuvarın kendi ekipmanını kalibre etmesi ve istenen sonuçlara ulaşmak için gereken süreyi belirlemesi önerilir.
4. Anti-A, Anti-B ve Anti-A,B reaktifleri kullanılarak elde edilen ileri gruplama sonuçları, bilinen kırmızı kan hücreleriyle ters gruplama yapılarak her zaman doğrulanmalıdır.
5. ABO özellikleri bilinen kırmızı kan hücrelerinin, reaktif performansını kontrol etmek ve test sonuçlarını doğrulamak için ara sıra, tercihen günlük olarak çalıştırılması şiddetle önerilir.
6. Kullanımdan sonra reaktifler hemen tekrar kapatılmalı ve 2-8°C'de saklanmalıdır.
7. Etiketdeki minimum titre iddiası, Anti-A reaktifi için A grubu hücrelere, Anti-B reaktifi için B grubu hücrelere ve Anti-A,B reaktifleri için AB grubu hücrelere dayanmaktadır. Bu, üretici tarafından önerilen titrasyon prosedürüne dayanmaktadır. Test prosedüründeki herhangi bir sapma, değişken sonuçlara neden olabilir.

KAYNAKÇA

1. Kohler C. & Milstein C. (1975), Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature, 256, 495-497.
2. Human Blood Groups, by Geoff Daniels, 1st Ed., Blackwell Science, Oxford 1995.

mi medios



Medios Medikal Bilişim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.
Güzelevler Mah. Çınar Cad. No:5 Yüreğir/Adana



Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

ANTI-D IgM/IgG

ÖZET

Antikorlar, fare antikor üreten B lenfositlerinin fare miyelom hücreleriyle birleştirilmesiyle oluşturulan hibridoma hücre hatlarından veya EBV transformasyonu yoluyla bir insan B hücre hatından türetilir. Her hibridoma hücre hattı, kimyasal yapıları ve immünolojik aktiviteleri bakımından özdeş olan yalnızca bir immüoglobulin sınıfından homojen antikorlar üretir. İnsan kırmızı kan hücreleri, üzerlerindeki Rho (D) antijeninin varlığına veya yokluğuna bağlı olarak Rho (D) pozitif veya Rho (D) negatif olarak sınıflandırılır. Kafkas nüfusunun yaklaşık %85'i Rho (D) pozitifdir. Bu fenotipi, Meditest anti-D Rho (IgM ve IgG) ile tespit edilebilen zayıf / kısmi D'leri tanımlamak için kullanılan geleneksel bir tanımdır. Dus'lann (zayıf / kısmi D'ler) yaklaşık %60'ı lam testinde Meditest Anti-D (Rho) reaktifi ile reaksiyona girebilir ve yaklaşık %90'ı tüp tekniği ile tespit edilebilir.

REAKTİF

Meditest Anti-D (Rho), EBV transformasyonu yoluyla elde edilen antikor üreten B lenfositleri içeren hücre kültürlerinin üst fazlarından hazırlanan kullanıma hazır bir reaktiftir ve IgM ve IgG sınıfı immüoglobulin antikorlarının bir karışımıdır. Bu antikorlar, aynı özgüllüğe sahip ancak insan kırmızı kan hücresi antijeni D'nin (Rho) farklı epitoplarını tanıma yeteneğine sahip birkaç antikorun bir karışımıdır. Meditest Anti-D (Rho) reaktifi, IgM ve IgG sınıfı Anti-D'nin (Rho) bir karışımıdır ve bu özellik, reaktife çok yönlülük kazandırır. Avid salinle reaksiyona giren bir slayt/tüp test reaktifine, Anti-human globulin fazında Du'yu (zayıf/kısmi D'ler) tespit etme yeteneği kazandırır. Her parti reaktif, özgüllüğü, aviditesi ve performansı açısından üretimin çeşitli aşamalarında kalite kontrolünden geçer.

REAKTİF SAKLAMA VE STABİLİTE

1. Reaktifi 2-8°C'de saklayın. DONDURMAYIN.
2. Reaktifin raf ömrü, reaktif şişesi etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadardır. Açıldıktan sonra, reaktif şişesinin raf ömrü, kirlenmemiş olması koşuluyla, reaktif şişesi etiketinde belirtildiği gibidir.

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

PRENSİP

D antijeni taşıyan insan kırmızı kan hücreleri, antijene yönelik antikor varlığında aglütine olur. Kırmızı kan hücrelerinin Meditest Anti-D (Rho) reaktifi ile aglütinasyonu pozitif bir test sonucu olup, D (Rho) antijeninin varlığını gösterir. Meditest Anti-D (Rho) reaktifi ile aglütinasyon olmaması negatif bir test sonucu olup, D (Rho) antijeninin yokluğunu gösterir.

ÖRNEK TOPLAMA VE HAZIRLAMA

Onaylı tekniklerle numune alımı öncesinde hastanın özel bir şekilde hazırlanmasına gerek yoktur. Numuneler, hemen test edilmeyecekse 2-8°C'de saklanmalıdır. Hemolizi numuneler kullanmayın. Çeşitli antikoagülanlar kullanılarak antikoagüle edilmiş kan, aşağıda belirtilen süre içinde test edilmelidir:

EDTA veya Heparin: 2 gün

Sodyum sitrat veya sodyum Oksalat: 14 gün

SLAYT VE TÜP TESTLERİ İÇİN GEREKLİ EK MALZEME

Cam Slaytlar (60 x 85 mm), Test tüpleri (12 x 75 mm), Test tüpü rafı, Pastör pipetleri, İzotonik tuzlu su, Santrifüj, Zamanlayıcı, Karıştırma çubukları, Anti-Human Globulin (Coombs) reaktifi.

TEST PROSEDÜRÜ

Testten önce reaktifleri ve numuneleri oda sıcaklığına getirin.

Slayt Testi

1. Temiz bir cam lama, reaktif damlalığı kullanarak bir damla veya 50 µl Anti D (Rho) reaktifi damlatılır.
2. Reaktif damlasına bir damla tam kan eklenir.
3. Reaktif ve kan örneği bir karıştırma çubuğu ile yaklaşık 2,5 cm²'lik bir alanda eşit şekilde karıştırılır.
4. Lami yavaşça ileri geri sallayın.
5. Üç dakikanın sonunda makroskobik olarak aglütinasyon olup olmadığını gözlemleyin.

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

Tüp Testi

1. İzotonik tuzlu suda test edilecek kırmızı kan hücrelerinin %5'lik bir süspansiyonunu hazırlayın.
2. Etiketli test tüplerine bir damla Meditest Anti-D (Rho) damlatın.
3. Her bir test tüpüne %5'lik kırmızı kan hücresi süspansiyonundan bir damla pipetleyin ve iyice karıştırın.
4. 1000 rpm'de (125 g) 1 dakika veya 3400 rpm'de (1000 g) 20 saniye santrifüjleyin.
5. Yavaşça tekrar süspansiyon edin.

SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Slayt ve Tüp Testleri

- a) Anti D (Rho) ile aglütinasyon pozitif bir test sonucu olup, D antijeninin varlığını gösterir. Periferik kuruma veya fibrin iplikçiklerini aglütinasyon olarak yorumlamayın.
- b) Anti D (Rho) ile aglütinasyon olmaması negatif bir test sonucu olup, D antijeninin yokluğunu gösterir.

NOTLAR

1. Yetersiz santrifüjleme ve aşırı santrifüjleme hatalı sonuçlara yol açabileceğinden, her laboratuvarın kendi ekipmanını ve sonuçların elde edilmesi için gereken süreyi kalibre etmesi önerilir.
2. Bilinen D pozitif ve D negatif kırmızı kan hücrelerinde rutin bir kalite kontrol önlemi olarak, reaktif performansını doğrulamak için tercihen günlük olarak ara sıra test yapılması şiddetle önerilir.
3. Kullanımdan sonra, reaktifler hemen tekrar kapatılmalı ve 2-8°C'de saklanmalıdır.
4. Anti D (Rho) ile aşırı duyarlı hale getirilen kordon hücreleri, anında spin testinde yanlış negatif sonuç verebilir.
5. Test edilen kişide soğuk aglütininer varsa, yanlış pozitif reaksiyonlar meydana gelebilir.

KAYNAKÇA

- (1) Kohler C. & Milstein C. (1975), Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature, 256, 495-497.
- (2) Lee H.H., Rouger P., Germain C., Muller A & Salmon C. (1983). The production and standardisation of antibodies as AB blood group typing reagents. Symposium of International Association of Biological Standardization on antibodies.

Slayt ve Tüp Testleri için Monoklonal Kan Grubu Antikorları

meditest

- (3) Human Blood Groups, by Geoff Daniels, 1st Ed., Blackwell Science, Oxford 1995.
- (4) HMSO, Guidelines for Blood Transfusion Services., 2nd Ed., 1994.
- (5) Blood transfusion in clinical medicine, P. L. Mollison, C. P. Engelfreit.



Medios Medikal Bilişim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.
Güzelevler Mah. Çınar Cad. No:5 Yüreğir/Adana

