

DOKÜMAN KODU	YAYIN TARİHİ	REVİZYON NO	REVİZYON TARİHİ	SAYFA /NO
TH.TL.09	01.01.2019	0	-	Sayfa 1 / 3

1. AMAÇ: Hastane bünyesinde; antiglobulin testlerinin doğru ve zamanında çalışabilmesi için yöntem belirlemek.

2. KAPSAM: Transfüzyon merkezi ve laboratuvar'ı kapsar

3. KISALTMALAR

4. TANIMLAR

5. SORUMLULAR: Transfüzyon merkezi çalışanları, tüm laboratuvar teknisyenleri.

6. FAALİYET AKIŞI

İnsan globulinlere karşı oluşan antikorlara anti-human globulinler (antikorlara karşı gelişen anti-antikor) ve bu antikorların kullanıldığı testlere de anti-human globulin (AHG) testi veya Coombs testi denir. Antikorlar serumda serbest ve/veya eritrositlerin yüzeyini kaplamış olarak bulunabilirler. Eritrositlerin yüzeyini kaplamış antikorlar DAT (Direkt Coombs Testi) ile, serbest dolaşan antikorlar İAT (İndirekt Coombs Testi) ile gösterilirler.

Direkt Antiglobulin Testi (DAT, Direkt Coombs Testi); vücuttaki *in vivo* globulinlerle kaplı eritrositlerin gösterilmesi için kullanılır. Tek aşamalıdır. İAT'nde inkübasyon gerekli olmasına rağmen DAT'nde inkübasyona gerek yoktur. DAT için kan örnekleri etilendiamintetraasetikasit (EDTA) içeren antikoagülanlı tüplere alınır. EDTA; test eritrositlerinin komplemanı *in vitro* yakalamasını engeller.

6.1 Aşağıdaki hastalıkları araştırma, tedavi rejimleri oluşturma ve izlemede DAT kullanılır.

- Otoimmün hemolitik anemiler
- Yenidoğanın hemolitik hastalığı
- Yakın zamanda yapılmış kan transfüzyonuna bağlı hemolitik reaksiyonlar
- İlaça bağlı hemolitik anemiler

6.2 İndirekt Antiglobulin Testi (İAT, İndirekt Coombs Testi); deney tüpünde eritrositler ve aglütine olmayan (inkomplet) antikorlar arasındaki reaksiyonları göstermek için kullanılır ve iki aşamalıdır. Antikor tarama ve tanımlama ile uygunluk testlerinde kullanılır.

6.3 Uygulama

6.3.1 Direkt Antiglobulin Testi (DAT, Direkt Coombs Testi)

Gerekli malzemeler:

- 10×75 veya 12×75'lik tüpler
- Santrifüj
- %0.9'luk NaCl
- EDTA'lı kan örneği (%2-5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlamak için)
- AHG reageni (Coombs serumu, polispesifik)

Testin yapılışı:

- Test uygulanacak kan bir test tübüne alınır. Hasta eritrositlerinden %0.9'luk NaCl ile %2-5'lik

DOKÜMAN KODU	YAYIN TARİHİ	REVİZYON NO	REVİZYON TARİHİ	SAYFA /NO
TH.TL.09	01.01.2019	0	-	Sayfa 2 / 3

eritrosit süspansiyonu hazırlanır (100 µl kan + 1900 µl %0.9'luk NaCl).

- Bu süspansiyonun 1.000 µl'si bir test tüpüne konur. Bu süspansiyon 2.000 µl %0.9'luk NaCl ile dört kez 3.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek yıkanır. Son yıkama suyu bırakılır.
- Üstteki süpernatant tamamen döküldükten sonra çökelti üzerine 1-2 damla AHG reageni (Coombs serumu) ilave edilir ve karıştırılır.
- 3000 rpm'de 3 dk santrifüj edilir.
- Santrifüj sonrası tüp çalkalanır ve değerlendirilir.

6.4 İndirekt Antiglobulin Testi (İAT, İndirekt Coombs Testi)

Gerekli malzemeler:

- 10x75 veya 12x75'lik tüpler
- Santrifüj
- Etüv (37°)
- %0.9'luk NaCl
- Serum örneği (Jelli tüpte)
- O Rh pozitif % 2-5' lik eritrosit süspansiyonu
- AHG reageni (Coombs serumu, polispesifik)

Testin yapılışı:

- Rh negatif gebe bir kadında anti-Rh antikorları araştırmak için hasta serumundan 150 µl alınıp bir tüpe konur.
- Üzerine 150 µl O Rh pozitif % 2-5' lik eritrosit süspansiyonu (100 µl kan + 1900 µl %0.9'luk NaCl) ilave edilir.
- Serum, eritrositleri sensitize etmek için (serumdaki antikorların eritrosit yüzeyine kaplanması için) 45 dk 37°'lik etüvde inkübe edilir.
- İnkübasyon bitiminde 3.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilir.
- Santrifüj sonrası tüpler hemoliz yönünden kontrol edilir. Daha sonra dibeye çöken eritrositler tekrar süspansiyon haline getirilir ve aglütinasyon olup olmadığı değerlendirilir.
- Aglütinasyon yoksa eritrositler AHG serumunun kısmen veya tamamen inaktivasyonuna sebep olabilecek herhangi bir bağlanmamış antikorunu uzaklaştırmak için bu süspansiyon 2.000 µl %0.9'luk NaCl ile dört kez 3.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek yıkanır. Son yıkama suyu bırakılır.
- Üstteki süpernatant tamamen döküldükten sonra yıkanmış eritrositlerin üzerine iki damla AHG reageni konur.
- 3000 rpm'de 3 dk santrifüj edilir ve tüp çalkalanır. Oluşan aglütinasyon, serumda bulunan antikor ile eritrositlerde bulunan antijen arasında bir reaksiyonu gösterir.

7. İLGİLİ DÖKÜMANLAR

HAZIRLAYAN	KONTROL EDEN	ONAYLAYAN
------------	--------------	-----------

ANTI-GLOBULİN TESTLERİ ÇALIŞMA TALİMATI



DOKÜMAN KODU	YAYIN TARİHİ	REVİZYON NO	REVİZYON TARİHİ	SAYFA /NO
TH.TL.09	01.01.2019	0	-	Sayfa 3 / 3

BÖLÜM KALİTE SORUMLUSU	KALİTE YÖNETİM DİREKTÖRÜ	BAŞHEKİM
-------------------------------	---------------------------------	-----------------