



LORNE LABORATORIES LTD.  
WIELKA BRYTANIA



## ODCZYNNIKI DO OZNACZANIA GRUP KRWI LUDZKIEJ METODYKA

Anty-k, anty-Kp<sup>a</sup>, anty-Kp<sup>b</sup>. Do pośrednich technik antyglobulinowych

### Podsumowanie

Antygeny K, k, Kpa i Kpb zostały odkryte odpowiednio w 1946, 1949, 1957 i 1958 roku. Antygeny systemu Kell są całkowicie rozwinięte z chwilą narodzin, a antygen K jest bardzo immunogeny. Występowanie antygenów anty-K, anty-k, anty-Kp<sup>a</sup> i anty-Kp<sup>b</sup> jest nierozdzielnie związane z reakcjami potransfuzyjnymi i Hemolityczną Chorobą Noworodków.

Anty-K	Anty-k	Anty-Kp <sup>a</sup>	Anty-Kp <sup>b</sup>	fenotyp	odsetek
+	0	N.A.	N.A.	K+k-	0.2
+	+	N.A.	N.A.	K+k+	8.8
0	+	N.A.	N.A.	K+k+	91.0
N.A.	N.A.	+	+	Kp(a+b-)	Rzadki
N.A.	N.A.	+	+	Kp(a+b+)	2.3
N.A.	N.A.	0	+	Kp(a-b+)	97.7
0	0	0	0	K <sub>o</sub>	bardzo rzadki

### Zasada

Odczynnik spowoduje, w antyglobulinowej fazie badania, pośrednią aglutynację badanych krwinek posiadających odpowiedni antygen Kell.  
Brak aglutynacji zazwyczaj wskazuje na nieobecność odpowiedniego antygeny Kell (Patrz ograniczenia).

### Odczynniki

Odczynniki do oznaczania grup krwi ludzkiej anty-kell jest są przygotowywane z ludzkiej surowicy rozcieńczonej w roztworze chlorku sodu, zawierającym wielkozączkowe substancje wzmacniające i albuminę bydlęcą. Odczynnik jest dostarczany w optymalnym stężeniu do użytku we wszystkich zalecanych metodach badaniach opisanych niżej, bez konieczności dodawania jakichkolwiek substancji. Seria i data ważności są nadrukowane na nalepce folki.

### Przechowywanie

Nie zamrażać. Folki z odczynnikami powinny być przechowywane w temp. 2 - 8°C. Przedłużone przechowywanie w innej temperaturze może wywołać przyspieszoną utratę reakcyjności odczynnika. Odczynnik pozostanie stabilny do 7 dni pod warunkiem przechowywania w temperaturze poniżej 30°C.

### Pobieranie i przygotowywanie próbek

Do typowania antygeny można użyć próbki krwi pobrane z antykoagulantem lub bez. Jeśli próbki nie mogą być przebadane natychmiast po pobraniu należy je przechowywać w 2-8°C. Probki pobrane na EDTA lub cytrynian należy przebadać w ciągu 48 godzin od pobrania. Probki pobrane na ACD, CPD lub CPDA-1 mogą być przebadane w ciągu 35 dni od pobrania. Przed badaniem próbki należy przepłukać co najmniej dwukrotnie w buforze PBS.

### Ostrzeżenia

- Odczynnik jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro
- Jeśli folka jest pęknięta lub przeciekająca należy ją niezwłocznie wyrzucić
- Nie używać odczynnika po wygaśnięciu daty ważności
- Nie używać odczynnika, jeżeli widoczne są osady
- Przy ochłodzeniu się z odczynnikiem należy zabrać się do pracy z ostrożnością
- Odczynnik został przefiltrowany przez kapsułkę 0.2 µl w celu zredukowania bio-osadu. Po otwarciu folki, zawartość pozostaje zdana do użycia do daty ważności, pod warunkiem, że nie jest męta, co może oznaczać, że odczynnik uległ zniszczeniu lub zanieczyszczeniu
- Odczynnik zawierają < 0.1% azydku sodu. Azydki sodu może być trujący, może też reagować z ołowiem i niektórymi instalacjami kanałizacyjnymi, dając w wyniku reakcji wybuchowe zyski metalu. Przy usuwaniu odczynnika, zaleca się dużą ilość wody
- Zaden test nie gwarantuje, że produkty otrzymane z ludzi lub zwierząt nie będą zawierać zainfekowanych substancji. Z folkami należy się obchodzić ostrożnie
- Materiały do produkcji odczynników zostały przebadane przy pomocy testów mikrobiologicznych, nie stwierdzono obecności HBsAg ani przeciwciał HIV 1+2 i HCV

## Pozbywanie się odczynnika i postępowanie w przypadku rozlania

W celu otrzymania informacji o pozbywaniu się odczynnika i oczyszczeniu rozlanych substancji niebezpiecznych należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych, która dostępna jest na prośbę zainteresowanego.

### Kontrola

- Zaleca się badać równoległe kontrole dodatnią (najlepiej heterozygotyczną) i kontrolę ujemną w każdej partii testów. W przypadku nie pojawienia się oczekiwanych wyników, badania powinny być uznane za nieważne.
- Techniki antyglobulinowe mogą być uznane za ważne jeśli wszystkie ujemne testy reagują dodatnio z czerwonymi krwinkami uwrażliwionymi IgG
- W zalecanych metodach badania i objętość to ok. 40 µl (dostarczany w zestawie aplikator)
- Badanie odczynników i interpretacja wyników muszą być przeprowadzone przez wykwalifikowany personel medyczny zgodnie z wymogami kraju, gdzie przeprowadzane jest badanie.
- Użytkownik sam określa przydatność odczynnika do zastosowania w innych technikach badania.

### Potrzebne odczynniki i materiały

- Globulina anty-ludzka, tj. Lorne Polyspecific AHG Elite (Cat # 435010) lub anty-IgG, tj. Lorne Monospecific anty-IgG (Cat # 401010)
- Młynia Coombsa
- Karty ID DiaMed (LISS/Coombs)
- Wirówka-ID DiaMed
- Rozcieńczalnik-ID DiaMed, np. ID-CellStab
- Inkubator-ID DiaMed nastawiony na 37°C +/- 2°C
- Szklane probówki (10 x 75 mm lub 12 x 75 mm)
- Czerwone krwinki uwrażliwione IgG, tj. Lorne Coombs Control Wells (Cat # 970010)
- PBS: NaCl 0.9%, pH 7.0 +/- 0.2 w temp. 22°C +/- 1°C
- Kontrola dodatnia (najlepiej heterozygotyczna) i kontrola ujemna
- Pipety miarczkowe
- Łaznia wodna lub suchy inkubator nastawiony na temp. 37 +/- 2°C.

### Zalecane metody badania

#### A. Pośrednia Technika Antyglobulinowa (IAT)

- Przygotować 2-3% zawiesinę przemitych czerwonych krwinek w PBS.
- Umieścić w oznaczonej probówce: 1 objętość odczynnika Lorne Kell i 1 objętość badanej zawiesiny czerwonych krwinek.
- Dobrze wymieszać i inkubować przez 15 minut w 37°C.
- Przemyc, czterokrotnie czerwone krwinki w PBS, dekantować osadkę pomiędzy płukankami oraz zawiesić ponownie pławkę zbitych czerwonych krwinek po każdym płukaniu. Dekantować całkowicie osadkę po ostatnim płukaniu.
- Dodać 2 objętości globuliny anty-ludzkiej lub anty-IgG do każdej suchej pławki zbitych krwinek.
- Wymieszać dokładnie i odwirować wszystkie probówki przez 20 sekund w 1000 ref lub z inną odpowiednią siłą i w innym odpowiednim czasie.
- Delikatnie wstrząsnąć pławkę zbitych krwinek i odczytać makroskopowo aglutynację
- Potwierdzić ważność: wszystkich ujemnych reakcji za pomocą czerwonych krwinek uwrażliwionych IgG

#### B. Technika DiaMed-ID

- Przygotować 0.8% zawiesinę przepłukanych czerwonych krwinek w rozcieńczalniku ID
- Usunąć folię aluminiową z wymaganej ilości probówek
- Umieścić w odpowiedniej probówce: 50 µl zawiesiny badanych czerwonych krwinek i 25 µl odczynnika Kell Lorne
- Inkubować Kartę/ID przez 15 minut w 37°C
- Odwirować Kartę/ID przez 10 minut w 90 ref lub z inną odpowiednią siłą i w innym odpowiednim czasie
- Odczytać makroskopowo aglutynację

### Interpretacja wyników

- Wynik dodatni: Aglutynacja czerwonych krwinek oznacza wynik dodatni badania; przyjaźniejszy ograniczenia procedury testu, wskazuje na obecność odpowiedniego antygeny Kell na badanych czerwonych krwinkach.
- Wynik ujemny: Brak aglutynacji czerwonych krwinek oznacza ujemny wynik badania; przyjaźniejszy ograniczenia procedury testu, wskazuje na nieobecność odpowiedniego antygeny Kell na badanych czerwonych krwinkach

### Stabilność reakcji

1. Cykle plukania powinny być przeprowadzone zaraz po sobie, próbki odwirowane, a wyniki odczytane natychmiast po dodaniu odczynnika. Wszelkie opóźnienia mogą spowodować dysocjację związków antygen-przeciwciał, dając fałszywie żądzone lub zawyżone wyniki.
2. Należy ostrożnie interpretować wyniki badań przeprowadzonych w innej temperaturze niż zalecana.

### Ograniczenia

1. Czerwone krwinki, które mają dodaną DAT, z powodu opłaszczenia IgG, nie mogą być typowane Postrednią Techniką Antyglobulinową.
2. Przeciwciała skierowane do antygenów niskiej częstotliwości mogą się okazać czynnikami skazującymi w antystrawicy do oznaczania grup krwi. Co więcej, niektóre antygeny (np. Bg, Sd<sup>a</sup>) mogą być w stanie zabudzić na czerwonych krwinkach. Zawieska je mogą leżeć u źródła rzadkich fałszywych reakcji dodatnich, które mogą występować w więcej niż I serii o określonej specyficzności.
3. Nie jest możliwe zagwarantowanie braku zanieczyszczenia przeciwciał, czerwone krwinki zawierające antygeny o niskiej częstotliwości lub zabudzone antygeny nie zawsze są dostępne do badań.
4. Oznaczona ilość niektórych przeciwciał grup krwi może dać fałszywie ujemne reakcje, dlatego należy uważać przy oznaczaniu genotypów na podstawie wyników badania
  - Fałszywe dodatnie lub ujemne wyniki mogą również wystąpić w następujących przypadkach:
    - Niewłaściwego czasu inkubacji lub niewłaściwej temperatury
    - Niewłaściwego lub nadmiernego odwirowywania
    - Niewłaściwego przechowywania badanych materiałów
    - Niezastosowania się do zalecanych technik badania
    - Niewłaściwego sężenia krwinek
5. Fałszywe dodatnie lub ujemne wyniki mogą również wystąpić w następujących przypadkach:
  - Niewłaściwego czasu inkubacji lub niewłaściwej temperatury
  - Niewłaściwego lub nadmiernego odwirowywania
  - Niewłaściwego przechowywania badanych materiałów
  - Niezastosowania się do zalecanych technik badania
  - Niewłaściwego sężenia krwinek

### Informacje szczegółowe

1. Odczynniki zostały scharakteryzowane poprzez procedury wymienione w 'Zalecanych metodach badania'
2. Przed wypuszczeniem na rynek każda seria Lorne anti-K, anti-K<sup>a</sup>, anti-Kp 1 anti-Kp 1 została przebadana na panelu czerwonych krwinek zawierających antygen wg zalecanych metod badania, w celu zapewnienia właściwej reaktywności
3. Obecność zanieczyszczających przeciwciał do antygenów o występowalności w statystycznej próbie  $\geq 1\%$  została wykuczona przy pomocy testów, w których zastosowano odpowiednio czerwone krwinki pozbawione antygenów lub przy pomocy testów, w których zastosowano odczynniki uprzednio wchłonięte w celu usunięcia zakłócających swoistości.
4. Przeciwciała do Xg<sup>a</sup>, Dc<sup>a</sup>, Yt<sup>a</sup>, Co<sup>b</sup>, Wp<sup>a</sup> i Bg<sup>a</sup> mogą nie być wykuczone w standardowych badaniach specyficzności, a wykrycie będzie zależało od dostępności odpowiednich krwinek. To samo można powiedzieć o Yt<sup>a</sup>, Mf<sup>a</sup> Y<sup>m</sup> oraz innych antygenach o niskiej częstotliwości, których obecność może nie być wykuczona w rutynowym badaniu specyficzności - wykrycie będzie zależało od dostępności odpowiednich krwinek.
5. Kontrola jakości odczynników została przeprowadzona z użyciem czerwonych krwinek przemytych w PBS przed użyciem
6. Odczynniki są zgodne z rekomendacjami zawartymi w ostatnim wydaniu Wytycznych UK Blood Transfusion Services.

### Zrzeczenie się odpowiedzialności

1. Producent nie ponosi odpowiedzialności za wyniki uzyskane przy zastosowaniu innych technik badania niż zalecane.
2. Przed zastosowaniem innych metod niż zalecane, należy potwierdzić ich skuteczność.

### Bibliografia

1. Widman FK. Technical Manual, 9<sup>th</sup> Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985, Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Molitson PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. 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








### Dostępne rozmiary odczynników

Ludzkie anti-K Lorne	Rozmiar folki	Numer katalogowy
Ludzkie anti-Kp <sup>a</sup> Lorne	2 ml 1000 ml	320002 320000
Ludzkie anti-Kp <sup>b</sup> Lorne	2 ml 1000 ml	321002 321000
Ludzkie anti-Kp <sup>a</sup> Lorne	2 ml 1000 ml	322002 322000

W celu uzyskania innych objętości, należy skontaktować się z Lorne Laboratories Ltd.

Lorne Laboratories Limited,  
PO Box 6  
TWYFORD  
Reading, RG10 9NJ  
England  
T. tel: +44 (0) 118 934 2400  
Fax: +44 (0) 118 934 2788  
E-mail: info@lornelabs.com

### TABELA SYMBOLI

	Numer serii		diagnostyka in-vitro
	Numer katalogowy		temperatura przechowywania
	data przydatn do użycia		producent
	patrz instrukcja		