

РЕАКТИВ СЪС СТАБИЛИЗИРАН ПАПАИН ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Parenzyme-Plus: За специфични серологични изследвания

РЕЗЮМЕ

Ензимите са особено полезни при откриването на антитела от системата Rh и осигуряват ценно допълнение към серологичните техники за идентифициране на антитела, особено при предполагаема смес от такива. Папаинът разрушава определени антигени от системата на кръвните групи – по-конкретно M, N, S, Fy^a, Fy^b и Xg^a – свойство, което може да бъде полезно за идентифициране и отделяне на смесени антитела.

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

Реактивът съдържа ензим, който може да подобри реакциите за аглутинация в кръвните групи при откриването на антиеритроцитни антитела при тестване по препоръчителните техники, посочени в тези инструкции за употреба.

ПРИНЦИП

Ензимите могат да засилват аглутинацията поне по два различни начина: с намаляване на повърхностния заряд на еритроцитите и с отстраняване на структури, които пространствено възпрепятстват достъпа на молекулите на антителата.

РЕАКТИВ

Реактивът Lorne Parenzyme-Plus е готов за употреба течен препарат от стабилизирани папаини. Реактивът е стандартизиран със серологични методи за употреба при проучвания за антитела на кръвните групи. Реактивът не съдържа канцерогенни, мутагенни и токсични за репродукцията (CMR) вещества, вещества, нарушаващи функцията на ендокринните жлези, или вещества, които могат да предизвикат сенсibiliзация или алергична реакция при потребителя. Реактивът се доставя оптимално разреден за употреба с всички препоръчителни техники, посочени по-долу, без необходимост от допълнително разреждане или добавяне. Информация за номера на партидата и срока за годност ще намерите в **Етикет на шишето**.

СЪХРАНЕНИЕ

Шишетата с реактивите трябва да се съхраняват при 2–8°C след получаване. Продължително съхранение при температури извън този диапазон може да доведе до ускорена загуба на реактивоспособност на реактива. Този реактив е изпитан за стабилност при транспортиране при 37°C и –25°C, както е описано в документ BS EN ISO 23640:2015.

ВЗИМАНЕ И ПОДГОТОВКА НА ПРОБИ

Кръвни проби могат да се взимат в антикоагуланти EDTA, цитрат, CPDA (цитрат, фосфат, декстроза, аденин) или като съсирена проба. Пробите трябва да се тестват възможно най-бързо след взимането. Ако тестването ще се забави, съхранявайте пробите при 2–8 °C. Проби с явна хемолiza или микробиологична контаминация не трябва да се използват за тестване. Кръвни проби с признаци на лизис може да дадат ненадеждни резултати.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Реактивът е предвиден само за *инвитро* диагностична употреба.
2. Ако шише с реактив е спукано или тече, незабавно изхвърлете съдържанието.
3. Не използвайте реактива след срока на годност (вижте **Етикет на шишето**).
4. Не използвайте реактива, ако има утайка.
5. При боравенето с реактивите трябва да се носи предпазно облекло – например ръкавици за еднократна употреба и лабораторна престилка.
6. Реактивът е филтриран през 0,2-µm капсула за намаляване на биологичното натоварване, но не се доставя стерилен. След отварянето на шишето съдържанието би следвало да остане използваемо до срока на годност, стига да няма явно помътняване, което може да означава влошаване на състоянието или контаминация на реактива.

ИЗХВЪРЛЯНЕ НА РЕАКТИВ И ПОЧИСТВАНЕ НА РАЗЛИВИ

Информация за изхвърлянето на реактива и деконтаминацията на разлив ще намерите в **Информационните листове за безопасност на материалите**, които се предоставят по заявка.

КОНТРОЛИ И СЪВЕТИ

1. Препоръчително е Lorne Precise Weak Anti-D и подходящи еритроцити (в идеалния случай R_{1r} и rr) да се тестват успоредно с всяка серия тестове. Тестовите трябва да се считат за невалидни, ако контролите не дават очакваните резултати.
2. Едноетапни техники за разбъркване, при които ензимът, серумът и еритроцитите се разбъркват без нарочно забавяне и се инкубират

заедно, не са препоръчителни за използване при скрининг на серуми на пациенти за атипични антитела или при тестване за съвместимост на серуми на пациенти с еритроцити от донори.

3. Препоръчително е да се използва автоматичен контрол, защото ензимите могат значително да подобряват реакциите на студени аглутинини и затова много нормални серуми реагират с ензимно обработените клетки при стайна температура, а в някои случаи – при 37°C.
4. Отклонение от препоръчителните методи на употреба може да доведе до грешни положителни или грешни отрицателни резултати. Това включва много леки промени в буфери или разтвори, които може да доведат до неоптимална pH за ензимна обработка.
5. Преди употреба оставете реактива да се темперира до стайна температура. Веднага след използването на реактива го върнете отново на съхранение при 2–8°C.
6. В **Препоръчителните техники** един обем е приблизително 50 µl, когато се използва предоставеният капкомер към шишето.
7. Реактивът трябва да се използва и резултатите трябва да се интерпретират от персонал с необходимата подготовка и квалификация в съответствие с изискванията на страната, където реактивите се използват.
8. Потребителят трябва да определя годността на реактива за употреба с други техники.

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ РЕАКТИВИ И МАТЕРИАЛИ

- Стъклени епруветки (10 × 75 mm или 12 × 75 mm).
- Фосфатно буфериран (PBS) (pH 6,8–7,2) или изотоничен физиологичен разтвор (pH 6,5–7,5).
- Положителни (R_{1r}) и отрицателни (rr) контролни еритроцити.
- Центрофуга за епруветки.
- Градуирани пипети.
- Инкубатор с водна баня или суха топлина, темперирани до 37°C ± 2°C.
- Слаб анти-D – например Lorne Precise Weak Anti-D (каталожен номер 209005).

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ТЕХНИКИ

A. Двуетапна техника (с еритроцитна маса)

1. Промийте еритроцитната маса два пъти с фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в етиктирана епруветка: 1 обем Lorne Parenzyme-Plus и 1 обем промита еритроцитна маса.
3. Разбъркайте добре и инкубирайте 15 минути при 37°C.
4. Промийте клетките веднъж с фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор и след това ги ресуспендирайте до 2–3% във фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
5. Поставете в етиктирана епруветка: 1 обем тестов серум и 1 обем обработена с Parenzyme-Plus суспензия на еритроцити.
6. Разбъркайте добре и инкубирайте 15 минути при 37°C.
7. Центрофугирайте 20 секунди всички епруветки при относителна центробежна сила (RCF) 1000 или други подходящи време и сила.
8. Ресуспендирайте внимателно всеки еритроцитен агрегат и отчетете макроскопски аглутинацията.

B. Двуетапна техника (с 2–3% еритроцити)

1. Пригответе 2–3% суспензия на промити еритроцити във фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
2. Поставете в етиктирана епруветка: 1 обем Lorne Parenzyme-Plus и 2 обема суспензия на еритроцити.
3. Разбъркайте добре и инкубирайте 15 минути при 37°C.
4. Промийте клетките три пъти с фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор и след това ги ресуспендирайте до 2–3% във фосфатно буфериран (PBS) или изотоничен физиологичен разтвор.
5. Поставете в етиктирана епруветка: 1 обем тестов серум и 1 обем обработена с Parenzyme-Plus суспензия на еритроцити.
6. Разбъркайте добре и инкубирайте 15 минути при 37°C.
7. Центрофугирайте 20 секунди всички епруветки при относителна центробежна сила (RCF) 1000 или други подходящи време и сила.
8. Ресуспендирайте внимателно всеки еритроцитен агрегат и отчетете макроскопски аглутинацията.

ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ТЕСТОВЕТЕ

1. **Положителен:** Аглутинация на еритроцити означава положителен резултат от теста в рамките на приемливите ограничения на тестовата процедура.

2. **Отрицателен:** Липсата на аглутинация на еритроцитите означава отрицателен резултат от теста в рамките на приемливите ограничения.

СТАБИЛНОСТ НА РЕАКЦИИТЕ

- Отчитайте всички резултати от тестовите на епруветки непосредствено след центрофугирането.
- Трябва да се внимава при интерпретирането на резултатите от тестове, извършени при температури, различни от **препоръчителните**.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Всички ензимни препарати губят част от своята ефикасност по време на съхранение. Затова може да е необходимо препоръчителното време на обработка да се увеличи, когато приближава срокът на годност, за да се осигури максимална чувствителност.
- Неправилни съотношения на Rarepzyme-Plus: могат да предизвикат наднормена хемолиза на клетъчната суспензия.
- Стандартната едноетапна техника е удобен метод за използване с ефикасни реактиви за определяне на кръвни групи, но той е сравнително нечувствителен за откриване на антитела или тестване за съвместимост. Това се дължи на присъствието на инхибитори на протеазата в серума също така на способността на папаина да разгражда молекули на Ig.
- Трябва да се внимава за поддържането на стерилността на ензимния препарат, защото той лесно се контаминира с микроорганизми и това може да доведе до грешни отрицателни или грешни положителни реакции.
- Ензимните тестове не откриват всички антитела с вероятна клинична значимост.
- Продължителното инкубиране може да предизвика отслабени положителни или грешни отрицателни реакции поради ензимното разграждане на молекулите на Ig.
- Грешни положителни или грешни отрицателни резултати могат да се получат също така поради:
 - Неправилна концентрация на клетките
 - Неправилно време или температура на инкубиране
 - Неправилно или наднормено центрофугиране
 - Неправилни условия на съхранение на тестови материали или пропуснато добавяне на реактив
 - Неподходяща техника – стандартната едноетапна ензимна техника например е по-нечувствителна от двуетапната.

СПЕЦИФИЧНИ РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Преди да бъде пусната в продажба, всяка партида реактиви е тествана по препоръчителните тестови методи, изброени в тези инструкции за употреба. Тестовите изпълняват изискванията в текущата редакция/издание на „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom (Указанията за кръвопреливане в Обединеното кралство)“.

ОСВОБОЖДАВАНЕ ОТ ОТГОВОРНОСТ

- Потребителят носи отговорността за работните характеристики на реактива, ако използва методи, различни от изброените в **Препоръчителните техники**.
- Всички отклонения от **Препоръчителните техники** трябва да се валидират преди употреба⁶.

БИБЛИОГРАФИЯ

- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
- Boorman and Dodd, Blood Group Serology, 5th ed. Churchill Livingstone (1977) 67, Technique 8.6.B.
- Phillips PK, Farr AD (Ed). Quality assurance and control in clinical laboratories. Med Lab Sci 1984; 32.
- Waters AH et al, Guidelines for compatibility testing in hospital blood banks. J Clin Lab Haemat 1987; 9: 333–341.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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.

ПРЕДЛАГАНИ РАЗФАСОВКИ НА РЕАКТИВИТЕ

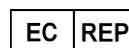
Размер на шишето	Каталожен номер	Теста на шише
10 ml	441010	200
1000 ml	441000*	20 000

* Тази разфасовка е за употреба само за по-нататъшно производство (FFMU) и затова няма маркировка CE.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate

Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Обединено кралство
Тел.: +44 (0) 118 921 2264
Факс: +44 (0) 118 986 4518
Имейл: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Малта