

REAGENTE STABILIZZATO A BASE DI PAPAINA
ISTRUZIONI PER L'USO

Papenzyme-Plus: Per studi sierologici specifici

RIEPILOGO

Gli enzimi sono particolarmente utili per l'individuazione degli anticorpi del sistema Rh e offrono una preziosa alternativa alla gamma di tecniche sierologiche utilizzate per l'identificazione degli anticorpi, specialmente laddove si sospetti l'esistenza di una miscela di anticorpi. La papaina distrugge alcuni antigeni del gruppo sanguigno, in particolare M, N, S, Fy^a, Fy^b e Xg^a, una proprietà questa che può rivelarsi utile per l'identificazione e la separazione degli anticorpi misti.

USO PREVISTO

Il reagente contiene un enzima in grado di aumentare le reazioni di agglutinazione del gruppo sanguigno nell'individuazione degli anticorpi anti-eritrocitari, se analizzati secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Gli enzimi possono potenziare l'agglutinazione in almeno due modi diversi: riducendo la carica superficiale di eritrociti o rimuovendo le strutture che interferiscono stericamente con l'accesso delle molecole di anticorpi.

REAGENTE

Il reagente Lorne Papenzyme-Plus è una preparazione liquida pronta all'uso di papaina stabilizzata. Il reagente è standardizzato con metodi sierologici per l'uso nelle ricerche di anticorpi del gruppo sanguigno. Il reagente non contiene né comprende sostanze CMR, o sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Il reagente viene fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate indicate di seguito senza la necessità di ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere **Etichetta della fiala**.

CONSERVAZIONE

Conservare le fiale di reagente a 2-8°C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata della reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità al trasporto a 37°C e -25°C come descritto nel documento BS EN ISO 23640:2015.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni di sangue possono essere raccolti in anticoagulanti EDTA, citrato, CPDA o come campione coagulato. Analizzare i campioni il prima possibile dopo aver effettuato la raccolta. In caso di ritardo nei test, conservare i campioni a 2-8°C. I campioni che presentano evidente emolisi o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per i test. I campioni di sangue che mostrano segni di lisi possono dare risultati non attendibili.

PRECAUZIONI

1. Il reagente è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
2. Se una fiala di reagente presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
3. Non usare il reagente dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
4. Non usare il reagente se è presente un precipitato.
5. Quando si maneggiano i reagenti, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
6. Il reagente è stato filtrato attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non viene fornito sterile. Dopo l'apertura di una fiala, il contenuto rimane vitale fino alla data di scadenza, a condizione che non vi sia una torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.

SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Per informazioni sullo smaltimento del reagente e sulla decontaminazione di un sito di fuoriuscita, vedere le **Schede di dati di sicurezza dei materiali**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E CONSIGLI

1. Si raccomanda di analizzare Lorne Precise Weak Anti-D e gli eritrociti appropriati (idealmente R_{1r} e rr) in parallelo con ogni lotto dei test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati previsti.
2. I metodi monofase in cui enzima, siero ed eritrociti vengono miscelati senza ritardo mirato e incubati insieme non sono raccomandati per l'uso

3. Si raccomanda di eseguire un test di autocontrollo poiché gli enzimi possono aumentare notevolmente le reazioni delle agglutinine a freddo e di conseguenza molti sieri normali reagiscono con le cellule trattate con enzimi a temperatura ambiente e in alcuni casi a 37°C.
4. Lo scostamento dalle tecniche d'uso raccomandate può portare a risultati falsi positivi o falsi negativi. Ciò include variazioni minori nei tamponi o nelle soluzioni, che possono risultare in un pH sub-ottimale per il trattamento enzimatico.
5. Prima dell'uso, far riscaldare il reagente fino a temperatura ambiente. Dopo aver utilizzato il reagente, riporlo nel luogo di conservazione a 2-8°C.
6. Nelle **Tecniche raccomandate** un volume è di circa 50µl se si usa la fiala contagocce fornita.
7. L'uso del reagente e l'interpretazione dei risultati devono essere eseguiti da personale adeguatamente formato e qualificato in conformità ai requisiti del paese in cui i reagenti sono in uso.
8. L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Soluzione di PBS (pH 6.8-7.2) o soluzione salina isotonica (pH 6.5-7.5).
- Eritrociti di controllo positivo (R_{1r}) e negativo (rr).
- Centrifuga per provette.
- Pipette volumetriche.
- Bagno d'acqua o incubatore di calore a secco equilibrato a 37°C ± 2°C.
- Anti-D debole, ovvero Lorne Precise Weak Anti-D (Cat # 209005).

TECNICHE RACCOMANDATE

A. Metodo a due fasi (uso di eritrociti concentrati)

1. Lavare due volte gli eritrociti concentrati con PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di Lorne Papenzyme-Plus e 1 volume di eritrociti concentrati lavati.
3. Miscelare accuratamente e incubare a 37°C per 15 minuti.
4. Lavare le cellule una volta con PBS o soluzione salina isotonica, quindi risospendere al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
5. Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di siero per test e 1 volume di sospensione di eritrociti trattati con Papenzyme-Plus.
6. Miscelare accuratamente e incubare a 37°C per 15 minuti.
7. Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
8. Risospendere delicatamente ciascun sedimento e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

B. Metodo a due fasi (uso di eritrociti al 2-3%)

1. Preparare una sospensione di eritrociti lavati al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di Lorne Papenzyme-Plus e 2 volumi di sospensione di eritrociti.
3. Miscelare accuratamente e incubare a 37°C per 15 minuti.
4. Lavare le cellule tre volte con PBS o soluzione salina isotonica, quindi risospendere al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
5. Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di siero per test e 1 volume di sospensione di eritrociti trattati con Papenzyme-Plus.
6. Miscelare accuratamente e incubare a 37°C per 15 minuti.
7. Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
8. Risospendere delicatamente ciascun sedimento e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

1. **Positivo:** L'agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato positivo del test entro i limiti accettati della procedura di test.
2. **Negativo:** L'assenza di agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato negativo entro i limiti accettati della procedura di test.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

1. Leggere tutti i test in provetta immediatamente dopo la centrifugazione.
2. Occorre prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati dei test effettuati a temperature diverse da quelle **raccomandate**.

LIMITAZIONI

1. Tutti i preparati enzimatici sono soggetti ad una certa perdita di potenza durante la conservazione. Potrebbe quindi essere necessario aumentare il tempo di trattamento raccomandato intorno alla data di scadenza del preparato per garantire la massima sensibilità.

2. Proporzioni improprie di Papenzyme-Plus: la sospensione cellulare può provocare un'emolisi eccessiva.
3. Il metodo standard monofase è una tecnica adatta all'utilizzo con reagenti potenti per la determinazione del gruppo sanguigno, ma è relativamente insensibile per l'individuazione di anticorpi o per test di compatibilità. Ciò è dovuto alla presenza di inibitori della proteasi nel siero oltre alla capacità della papaina di scindere le molecole di Ig.
4. Prestare attenzione a mantenere la sterilità del preparato enzimatico, poiché questi si contaminano facilmente con microrganismi che possono provocare reazioni false negative o false positive.
5. I test enzimatici non individuano tutti gli anticorpi di probabile rilevanza clinica.
6. L'incubazione prolungata può causare reazioni positive indebolite o false negative a causa della degradazione enzimatica delle molecole di Ig.
7. I risultati falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi anche a causa di:
 - Errata concentrazione cellulare
 - Tempo o temperatura di incubazione errati
 - Errata o eccessiva centrifugazione
 - Errata conservazione dei materiali dei test o omissione del reagente
 - Tecnica inadeguata, per esempio metodo enzimatico monofase che risulta meno sensibile rispetto al metodo a due fasi.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

1. Prima del rilascio, ogni lotto di reagente è stato testato utilizzando i metodi di analisi raccomandati elencati nelle presenti istruzioni per l'uso. I test sono risultati conformi ai requisiti di analisi indicati nella versione/edizione attuale delle "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" ("Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito").

DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

1. L'utilizzatore è responsabile delle prestazioni del reagente con qualsiasi metodo diverso da quelli indicati nelle **Tecniche raccomandate**.
2. Qualsiasi scostamento dalle **Tecniche raccomandate** deve essere approvato prima dell'uso⁶.

BIBLIOGRAFIA

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

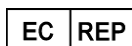
DIMENSIONI DEI REAGENTI DISPONIBILI

Dimensione fiala	Numero catalogo	Test per fiala
10 ml	441010	200
1000 ml	441000*	20.000

*Questa dimensione è esclusivamente per uso successivo (FFMU), e pertanto non è dotata di marchio CE.



Lorne Laboratories Limited
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
 Danehill
 Lower Earley
 Berkshire, RG6 4UT
 Regno Unito
 Tel: +44 (0) 118 921 2264
 Fax: +44 (0) 118 986 4518
 E-mail: info@lornelabs.com



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