



REACTIV DE PAPAİNĂ STABILIZATĂ  
INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

**Papenzyme-Plus: Pentru studii serologice specifice**

**REZUMAT**

Enzimele sunt deosebit de utile în detectarea anticorpilor sistemului Rh și reprezintă un supliment valoros la gama de tehnici serologice utilizate pentru identificarea anticorpilor, în special în cazul în care se suspectează un amestec de anticorpi. Papaina distruge o serie de antigene de grup sanguin, în special M, N, S, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup> și Xg<sup>a</sup>, proprietate ce poate fi utilă pentru identificarea și separarea anticorpilor amestecați.

**SCOPUL PROPUS**

Reactivul conține o enzimă care poate îmbunătăți reacțiile de aglutinare a grupeii sanguine în detectarea anticorpilor anti-eritrocitari în cazul testării cu tehnicile recomandate și prezentate în aceste instrucțiuni de utilizare.

**PRINCIPIUL**

Enzimele pot potența aglutinarea în cel puțin două moduri diferite: prin reducerea suprafeței de încărcare a globulelor roșii și prin eliminarea structurilor, care interferează steric cu accesul la moleculele de anticorpi.

**REACTIV**

Reactivul Papenzyme-Plus Lorne este un preparat lichid de papaină stabilizată gata de utilizare. Reactivul este standardizat prin metode serologice pentru utilizare în investigații ale grupelor sanguine. Reactivul nu conține sau nu este compus din substanțe CMR, substanțe perturbatoare pentru sistemul endocrin sau care ar putea provoca sensibilizare sau o reacție alergică în cazul utilizatorului. Reactivul este furnizat la diluarea optimă pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate prezentate mai jos, fără să mai fie necesară diluarea sau adăugarea suplimentară. Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați **Eticheta flaconului**.

**DEPOZITARE**

Flacoanele cu reactiv trebuie depozitate la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C după primire. Depozitarea prelungită la temperaturi în afara acestui interval poate duce la pierderea accelerată a reactivității. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 °C și -25 °C, conform precizărilor din documentul BS EN ISO 23640:2015.

**RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI**

Probele de sânge pot fi recoltate în EDTA, citrat, anticoagulanți CPDA sau ca probă coagulată. Probele trebuie testate cât mai curând posibil după recoltare. Dacă survine o întârziere în ce privește testarea, păstrați probele la 2-8 °C. Probele care prezintă o hemoliză intensă sau o contaminare microbiană nu trebuie utilizate pentru testare. Probele de sânge care prezintă semne de liză pot conduce la rezultate neconcludente.

**PRECAUȚII**

1. Reactivul este destinat exclusiv diagnosticului *in vitro*.
2. Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
3. Nu folosiți reactivul după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
4. Nu folosiți reactivul dacă observați că s-a format un precipitat.
5. Purtați echipament de protecție când manipulați reactivii, cum ar fi mănuși de unică folosință și un halat de laborator.
6. Reactivul a fost filtrat printr-o membrană de 0,2 μm pentru a reduce încărcătura biologică, dar nu este livrat steril. După deschiderea flaconului, reactivul poate fi folosit până la data de expirare dacă nu se observă o turbiditate marcată, care ar putea indica deteriorarea sau contaminarea reactivului.

**ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI CUM SE ACȚIONEAZĂ ÎN CAZ DE STROPIRE**

Pentru informații privind eliminarea reactivului și metodele de decontaminare a unui loc în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate ale materialului**, disponibile la cerere.

**MARTORI ȘI RECOMANDĂRI**

1. Se recomandă testarea a Precise Weak Anti-D Lorne și a globulelor roșii corespunzătoare (ideal R<sub>1r</sub> și rr) în paralel cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
2. Tehnicile cu un pas de amestecare, în care enzima, serul și globulele roșii sunt amestecate fără o întârziere intenționată și incubate împreună, nu sunt recomandate pentru utilizare în screeningul serului pacienților pentru anticorpi atipici sau în testarea compatibilității serului pacienților cu globulele roșii ale donatorilor.

3. Se recomandă un autocontrol deoarece enzimele pot majora considerabil reacțiile aglutininelor la rece și astfel multe seruri normale reacționează cu celulele tratate enzimatic la temperatura camerei și, în unele cazuri, la 37 °C.
4. Abaterea de la metodele recomandate de utilizare poate genera rezultate fals pozitive sau fals negative. Aceasta include modificări foarte ușoare ale tamponelor sau ale soluțiilor, ceea ce poate duce la un pH suboptimal pentru tratamentul enzimatic.
5. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei. Imediat după utilizare, depozitați reactivul înapoi la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.
6. În **Tehnici recomandate**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
7. Utilizarea reactivului și interpretarea rezultatelor trebuie efectuate de personal calificat și instruit în mod corespunzător în conformitate cu cerințele țării în care se utilizează reactivii.
8. Utilizatorul trebuie să stabilească în ce măsură se poate utiliza reactivul în alte tehnici.

**REACTIVI ȘI MATERIALE CARE SUNT NECESARE, DAR NU SUNT FURNIZATE**

- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Soluție PBS (pH 6,8-7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5-7,5).
- Globule roșii martor pozitiv (R<sub>1r</sub>) și negativ (rr).
- Centrifugă pentru eprubete.
- Pipete volumetrice.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.
- Anti-D slab, adică Precise Weak Anti-D Lorne (Cat # 209005).

**TEHNICI RECOMANDATE**

**A. Tehnica cu doi pași (folosind globulele roșii împachetate)**

1. Spălați globulele roșii împachetate de două ori cu PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de Papenzyme-Plus Lorne și 1 volum de globule roșii împachetate spălate.
3. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
4. Spălați celulele o dată cu PBS sau soluție salină izotonă, iar apoi resuspendați la 2-3% în PBS sau soluție salină izotonă.
5. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de ser de testare și 1 volum de suspensie de globule roșii tratată cu Papenzyme-Plus.
6. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
7. Centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
8. Resuspendați ușor fiecare buton de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare

**B. Tehnica cu doi pași (folosind globule roșii 2-3%)**

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii spălate în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de Papenzyme-Plus Lorne și 2 volume de suspensie de globule roșii.
3. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
4. Spălați celulele de trei ori cu PBS sau soluție salină izotonă, iar apoi resuspendați la 2-3% în PBS sau soluție salină izotonă.
5. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de ser de testare și 1 volum de suspensie de globule roșii tratată cu Papenzyme-Plus.
6. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
7. Centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
8. Resuspendați ușor fiecare buton de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare

**INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI**

1. **Pozitiv:** Aglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat pozitiv în limitele acceptate ale procedurii de testare.
2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ în limitele acceptate.

**STABILITATEA REACȚIILOR**

1. Efectuați citirea tuturor testelor cu eprubete imediat după centrifugare.
2. Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele **recomandate**.

**LIMITĂRI**

1. Toate preparatele cu enzime își pot pierde din forță în depozitare. Prin urmare, s-ar putea să fie necesar să măriți durata recomandată a

- tratamentului spre data de expirare a preparatului pentru a asigura sensibilitate maximă.
- Diluție incorectă de Papanzyme-Plus: suspensia de celule poate duce la hemoliză excesivă.
  - Tehnica standard cu un pas este o metodă ușor de aplicat și se pretează la utilizarea cu reactivi puternici pentru determinarea grupei sanguine, dar este relativ insensibilă pentru detectarea anticorpilor sau testarea compatibilității. Aceasta se datorează prezenței inhibitorilor de protează în ser și, de asemenea, capacității papainei de a desface moleculele Ig.
  - Aveți grijă să păstrați steril preparatul enzimatic întrucât poate fi contaminat ușor cu microorganisme, ceea ce poate duce la reacții fals negative sau fals pozitive.
  - Testele enzimatiche nu detectează toți anticorpii cu posibilă semnificație clinică.
  - Incubarea excesivă poate cauza reacții slab pozitive sau fals negative din cauza degradării enzimatiche a moleculelor de Ig.
  - Rezultatele fals pozitive sau fals negative pot fi generate și de:
    - Concentrație celulară necorespunzătoare
    - Timp sau temperatură de incubație necorespunzătoare
    - Centrifugarea necorespunzătoare sau excesivă
    - Depozitarea necorespunzătoare a materialelor de testare sau omiterea reactivului
    - O tehnică necorespunzătoare, de ex. tehnica enzimatică standard cu un pas este mai puțin sensibilă decât tehnica cu doi pași.

## CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

- Înainte de a fi pus pe piață, fiecare lot de reactiv a fost testat conform metodelor de testare recomandate și enumerate în aceste instrucțiuni de utilizare. Testele corespund cerințelor de testare prezentate în numărul/versiunea curentă a „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” (Orientări pentru Serviciile de transfuzii sanguine din Regatul Unit).

## DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

- Utilizatorul este singurul responsabil pentru performanța reactivului în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnici recomandate**.
- Orice abatere de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare<sup>6</sup>.

## BIBLIOGRAFIE

- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; capitolul 7
- Boorman and Dodd, Blood Group Serology, 5<sup>th</sup> 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. Ediția curentă.
- 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.

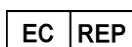
## DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
10 ml	441010	200
1000 ml	441000*	20.000

\*Această mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



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



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta