



**REACTIV DE PAPAINA STABILIZAT**  
INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

Pepenzyme Plus: Pentru Studii Serologice Specifice

### SUMAR

Enzimele sunt folosite in particular pentru detectarea anticorpilor in sistemul Rh si cresc domeniul de tehnici serologice folosite in identificarea anticorpilor, in special in situatiile in care este suspectat un amestec de anticorpi. Papaina distruge anumiti antigeni, in special M, N, S, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup> si Xg<sup>a</sup>, o proprietate care poate fi exploatarea pentru identificarea si separarea anticorpilor amestecati.

### PRINCIPIU

Enzimele pot potentia aglutinarea in cel putin doua moduri: prin reducerea suprafetei de incarcare a celulelor rosii sau prin indepartarea structurilor care interfera in accesul la anticorpii moleculari.

### REACTIV

Reactivul Lorne Papezyme-Plus este o solutie lichida de papaina stabilizata, gata de utilizare. Reactivul este standardizat prin metode serologice pentru utilizarea in investigarea anticorpilor grupelor sangvine. Reactivul este furnizat la dilutia optima pentru utilizarea cu toate metodele mentionate mai jos fara a mai avea nevoie de dilutii ulterioare sau adugiri. Pentru numarul de referinta de lot si data de expirare consultati **Eticheta flaconului**.

### STOCARE

Nu inghetati. Flacoanele trebuie pastrate la frigider, 2 - 8°C. Stocarea indelungata la temperature in afara domeniului precizat poate conduce la scaderea accelerate a reactivitatii produsului. Reactivul isi pastreaza proprietatile pana la 7 zile cand este supus la temperature care nu depasesc 30°C

### PRELEVAREA PROBELOR SI PREPARAREA

Probele de sange trebuie recoltate aseptice pe anticoagulant EDTA si testate in decurs de 48 hours. Daca nu este disponibil EDTA, recoltati pe ACD, CPD sau CPDA-1 si pot fi testate in maxim 35 de zile de la recoltare. Toate probele de sange trebuie spalate de cel putin 2 ori cu PBS inainte de testare.

### PRECAUTII

1. Reactivul este destinat doar diagnosticului *in vitro*.
2. Daca un flacon este crapat sau curge, aruncati imediat tot continutul.
3. Nu folositi reactivul daca a trecut data de expirare (detalii pe eticheta flaconului).
4. Nu folositi reactivul daca observati formarea unui precipitat.
5. Se recomanda sa purtati echipament de protectie specific de laborator: halat, manusi.
6. Reactivul a fost filtrat pe o membrana de 0.2 µm pentru reducerea incarcaturii biologice. Dupa deschiderea flaconului reactivul poate fi folosit pana la data de expirare marcata pe flacon daca nu se observa turbiditate, ceea ce poate indica deteriorarea reactivului sau contaminarea.
7. Reactivul contine azida de sodiu 0.1%. Azida de sodiu este toxica daca este ingerata si poate reactiona cu tubulatura de canalizare confectionata din plumb sau cupru, formand compusi explozivi pe baza de azide metalice. Cand aruncati lasati sa curga impreuna cu cantitati mari de apa.

### ARUNCAREA REACTIVILOR SI TRATAREA STROPILOR

Pentru informatii privind aruncarea reactivului si metodele de decontaminare in urma stropirii folositi informatiile din SMDS, disponibile la cerere.

### CONTROALE SI SFATURI

1. Se recomanda folosirea serului Lorne Precise Weak Anti-Dsi a eritrocitelor corespunzatoare (ideal R<sub>1</sub>r si rr) ca materiale de test in paralel cu fiecare lot de pacienti. Testele trebuie invalidate daca testele de control nu sunt corespunzatoare.
2. Tehnicile cu un pas de amestecare, in care enzima, serul si eritrocitele sunt amestecate fara o intarziere utila si incubate impreuna NU sunt recomandate pentru utilizarea in screeningul pacientilor pentru anticorpi atipici sau pentru teste de compatibilitate cu eritrocitele donorului.
3. Se recomanda un auto-control deoarece enzimele pot creste considerabil reactivitatea aglutinilor reci iar multe seruri normale reactioneaza cu celulele tratate enzimatic la temperatura camerei iar in unele cazuri la 37°C.

4. Devierea de la metodele recomandate poate conduce la obtinerea de rezultate fals pozitive sau fals negative. Acestea includ variatii usoare in compozitia bufferului sau in solutii ce pot conduce la un Ph sub-optimal pentru tratamentul enzimatic.
5. In **Technicile Recomandate** un volum se considera 40µl cand se foloseste picuratorul furnizat.
6. Folosirea reactivului si interpretarea rezultatelor trebuie facute de catre personal calificat si experimentat, in conformitate cu cerintele legislative din tara in care sunt folositi reactivii.
7. Utilizatorul trebuie sa determine daca reactivul este potrivit pentru utilizarea cu alte tehnici de investigare.

## REACTIVI SI MATERIALE NECESARE

- Eprubete (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Phosphate Buffered Saline (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 la 22°C ± 1°C
- Eritrocite de Control pozitiv (R<sub>1r</sub>) si negativ (rr).
- Centrifuga pentru tuburile de test.
- Pipete volumetrice.
- Baie de apa sau incubator cu aer uscat, termostatare la 37°C ± 2°C.
- Ser anti-D slab exemplu: Lorne Precise Weak Anti-D (Cat # 209005).

## TEHNICI RECOMANDATE

### A. Tehnica cu 2 pasi (folosind eritrocite impachetate)

1. Spalati eritrocitele de 2 ori folosind solutie PBS.
2. Puneti in eprubete etichetate: 1 volum Lorne Papenzyme-Plus si 1 volum eritrocite spalate.
3. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 15 minute.
4. Spalati celulele 1 data cu PBS si resuspendati-le 2-3% in PBS.
5. Puneti in eprubete etichetate: 1 volum de ser de test si 1 volum suspensie eritrocite tratate cu Papenzyme-Plus.
6. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 15 minute.
7. Centrifugati toate tuburile pentru 20 secunde la 1000 rcf sau la un echivalent timp – turatie.
8. Resuspendati usor fiecare buton celular si observati macroscopic aglutinarea.

### B. Tehnica cu 2 pasi (folosind eritrocite 2-3%)

1. Preparati o suspensie de eritrocite spalate 2-3% in PBS.
2. Puneti intr-o eprubeta de test etichetata : 1 volum Lorne Papenzyme-Plus si 9 volume of suspensie eritrocite de test.
3. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 15 minute.

4. Spalati celulele 1 data cu PBS si resuspendati 2-3% in PBS.
5. Puneti intr-o eprubeta de test etichetata: 1 volum de ser de test si 1 volum de suspensie de eritrocite tratate cu Papenzyme-Plus.
6. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 15 minute.
7. Centrifugati toate tuburile pentru 20 secunde la 1000 rcf sau o echivalenta timp-forta.
8. Resuspendati usor fiecare buton celular si observati macroscopic aglutinarea.

### C. Tehnica cu 1 pas Phased

1. Preparati o suspensie de eritrocite de test spalate 2-3% in PBS.
2. Puneti in eprubete etichetate: 1 volum Lorne Papenzyme-Plus si 1 volum suspensie eritrocite test.
3. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 15 minute.
4. Adaugati 2 volume de ser de test, amestecati usor si incubati la 37°C pentru inca 5 minute.
5. Centrifugati toate tuburile pentru 20 secunde la 1000 rcf sau o echivalenta timp-forta.
6. Resuspendati usor fiecare buton celular si observati macroscopic aglutinarea.

### D. Tehnica Standard cu 1 pas

1. Preparati o suspensie de eritrocite spalate 2-3% in PBS.
2. Puneti in eprubete etichetate: 1 volum Lorne Papenzyme-Plus, 2 volume ser de test si 2 volume de suspensie de eritrocite.
3. Amestecati bine si incubati la 37°C pentru 15 minute.
4. Centrifugati toate tuburile pentru 20 secunde la 1000 rcf sau o echivalenta timp-forta.
5. Resuspendati usor fiecare buton celular si observati macroscopic aglutinarea.

## INTERPRETAREA REZULTATELOR

1. **POZITIV:** Aglutinarea celulelor rosii testate constituie rezultat pozitiv in limitele acceptate de procedura folosita.
2. **NEGATIV:** NEaglutinarea celulelor rosii testate constituie rezultat NEGativ in limitele acceptate de procedura folosita.

## STABILITATEA REACTIEI





1. Cititi tuburile imediat dupa centrifugare.
2. Trebuie sa interpretati cu atentie rezultatele daca se lucreaza la alta temperatur decat cea specificata.

## LIMITARI

1. Toate preperatele cu enzime isi pierd din reactivitate prin stocare. Uneori poate fi necesara cresterea timpului de tratament in perioada de expirare a valabilitatii, pentru a putea asigura sensibilitatea maxima.
2. La dilutii incorecte de Papezyme-Plus: suspensiile de celule pot conduce la hemoliza exesiva.
3. Tehnica standard cu un pas este o metoda usor de aplicat si se preteaza la folosirea cu reactivi de determinare a grupelor puternici, dar etse relativ insensibila la detectia anticorpilor sau pentru teste de compatibilitate. Aceasta se datoreaza prezentei inhibitorilor de proteaza in ser si deasemenea abilitatii papainei de a desface moleculele Ig.
4. Trebuie sa lucrati cu grija pentru a mentine sterilitatea preparatului enzimatic, deoarece dupa o contaminare cu microorganisme pot apare rezultate fals pozitive sau fals negative.
5. Testele enzimaticenu detecteaza toti anticorpii cu o probabila semnificatie clinica.
6. Incubarea prelungita poate duce la reactii slab pozitive sau fals negative din cauza degradarii prin actiunea enzimei asupra moleculelor Ig.
7. Rezultate fals positive sau fals negative se pot obtine din cauza:
  - Concentratiei de celule necorespunzatoare.
  - Timpului de incubare sau temperaturii necorespunzatoare.
  - Centrifugarii necorespunzatoare sau excesive.
  - Stocarea necorespunzatoare a materialelor de test sau omiterea unui reactiv.
  - Folosirea unei tehnici neadecvate. De ex: tehnica standard cu un pas este mai putin sensibila decat tehnica cu 2 pasi.

## PERFORMANTE CARACTERISTICE SPECIFICE

1. Reactivul etse caracteristic procedurilor decrie in **Tehnicile Recomandate**.
2. Inainte de a fi pus pe piata, fiecare lot de Lorne Papezyme-Plus este testat in conformitate cu **Tehnicile Recomandate** fata de un lot de celule pentru a verifica reactivitatea.

<b>LOT</b>	Batch Number	<b>IVD</b>	<i>In-vitro</i> Diagnostic
<b>REF</b>	Catalogue Reference		Store At
	Expiry Date		Manufacturer
	Read Pack Insert		

3. Reactivul este conform cu Recomandarile Directoare ale Serviciului de Transfuzii din Marea Britanie.

## DEZMINTIRE

1. Utilizatorul este singurul responsabil pentru performantele reactivului prin utilizarea altor metode decat cele descrites in **Tehnicile Recomandate**.
2. Orice deviere de la **Tehnicile Recomandate** trebuie validata inainte de utilizare<sup>5</sup>.

## BIBLIOGRAFIE

1. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
2. Boorman and Dodd, Blood Group Serology, 5<sup>th</sup> 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 compatability 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.

## IMPACHETARI DISPONIBILE

Volum flacon	Cod produs
2 ml	441002
10 ml	441010

Pentru alte impachetari contactati producatorul:

### Lorne Laboratories Limited

Unit 7 Tavistock Estate  
Ruscombe Business Park  
Ruscombe Lane  
Twyford  
Reading RG10 9NJ  
England  
Tel: +44 (0) 118 934 2400  
Fax: +44 (0) 118 934 2788  
E-mail: [info@lornelabs.com](mailto:info@lornelabs.com)

	Numar de lot		Diagnostic <i>In vitro</i>
	Cod de catalog		Stocati la
	Data expirarii		Producator
	Cititi prospectul		