



# LORNE LABORATORIES LTD.

## GREAT BRITAIN

### REAGENTE ESTABILIZADO DE PAPAÍNA

Somente para uso diagnóstico *in vitro* – Pronto para uso

**Papenzyme-PLUS:** Para estudos sorológicos específicos



**ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.**

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907-2534 / [sac@kovalent.com.br](mailto:sac@kovalent.com.br)

### SUMÁRIO

Enzimas são particularmente úteis na detecção de anticorpos do sistema Rh e oferecem uma valiosa contribuição a uma gama de técnicas sorológicas utilizadas na identificação de anticorpos, especialmente quando se suspeita da existência de uma mistura de anticorpos. A papaína destrói certos antígenos de grupo sanguíneo, notadamente M, N, S, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup> e Xg<sup>a</sup>, uma propriedade que pode ser útil na identificação e separação de misturas de anticorpos.

### PRINCÍPIO

Enzimas podem potencializar a aglutinação por pelo menos duas formas diferentes: reduzindo a carga superficial das hemácias, e pela remoção de estruturas que interferem estericamente no acesso das moléculas de anticorpo.

### REAGENTE

Papenzyme-Plus Lorne é uma preparação líquida de papaína estabilizada, pronta para uso. O reagente é padronizado por métodos sorológicos para uso em investigações de anticorpos de grupos sanguíneos. O reagente é fornecido em uma diluição ótima para ser usado com todas as técnicas recomendadas, sem a necessidade de diluição ou adição posterior. O número de referência do lote e a data de vencimento estão impressos nos rótulos dos frascos.

### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os frascos originais devem ser armazenados de 2-8° C. Não congelar. O armazenamento prolongado a temperaturas fora das especificações pode resultar em perda acelerada da reatividade.

### COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras de sangue devem ser coletadas assepticamente em EDTA e testadas assim que possível. Amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 podem ser testadas caso não sejam disponibilizadas em EDTA e podem ser testadas até 35 dias após a coleta. Todas as amostras devem ser lavadas no mínimo duas vezes com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes de serem testadas.

### PRECAUÇÕES

1. O reagente é somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
2. Se o frasco estiver rachado ou vazando descartar o conteúdo imediatamente.
3. Não utilizar reagentes fora da data de vencimento (ver rótulos).
4. Não utilizar os reagentes se houver presença de precipitados.
5. Durante a manipulação dos reagentes, deve-se utilizar equipamentos de proteção individual (EPI), como luvas descartáveis e aventais de proteção (jalecos).
6. O reagente foi filtrado através de uma cápsula de 0.2 µm para reduzir a contaminação. Uma vez que o frasco for aberto, o conteúdo permanece viável até a data de vencimento, desde que não haja nenhuma turbidez que indique contaminação ou deterioração.

### DESCARTE DO FRASCO DE REAGENTE E CONTEÚDO

Para informação de descarte do reagente e descontaminação, seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, vide revisão em vigor. Caso necessário, consultar o MSDS (Material Safety Data Sheets) que pode ser disponibilizado quando requerido.

### CONTROLES E AVISOS

1. Recomenda-se que sejam testados Precise Weak Anti-D Lorne e hemácias apropriadas (aconselhável R<sub>1r</sub> e rr) em paralelo a cada bateria de testes. O teste deve ser considerado inválido se os controles não demonstrarem os resultados esperados.
2. Técnicas de mistura em uma etapa, em que a enzima, o soro e as hemácias são misturados rapidamente e incubados em conjunto, não são recomendados na triagem de soros de pacientes para anticorpos atípicos ou em testes de compatibilidade do soro dos pacientes com soros de doadores.
3. Um auto-controle é recomendado, pois as enzimas podem potencializar consideravelmente as reações de aglutininas frias, e com isso soros normais podem reagir com as hemácias tratadas com enzima na temperatura ambiente e, em alguns casos, a 37°C.
4. Desvio dos métodos recomendados de utilização pode resultar em falsos positivos e falsos negativos. Isso inclui pequenas alterações nos tampões ou nas soluções, que podem resultar em pH ótimo para tratamento enzimático.
5. Nas Técnicas Recomendadas um volume corresponde a aproximadamente 50µl, quando usando o conta-gotas fornecido com o frasco.
6. O uso dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizados por pessoal treinado e qualificado, de acordo com os requerimentos do país onde o reagente está sendo usado.
7. O usuário deve determinar a adequação do reagente para o uso em outras técnicas.

### MATERIAL NECESSÁRIO

- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Tampão salina fosfato (PBS) - pH 6.8-7.2 ou Solução Fisiológica 0,9% - pH 6.5-7.5.
- Hemácias controle positivo (R<sub>1r</sub>) e negativo (rr).
- Centrífuga de tubos teste.
- Pipetas volumétricas.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco equilibradas a 37°C ± 2°C.
- Precise Weak Anti-D Lorne

### TÉCNICAS RECOMENDADAS

#### Técnica em dois estágios: (usando hemácias concentradas)

1. Lavar as hemácias duas vezes com PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar em um tubo teste identificado: 1 volume do reagente Papenzyme-Plus Lorne e 1 volume de hemácias lavadas
3. Misturar cuidadosamente e incubar a 37° C por 15 minutos.
4. Lavar as células 1 vez com PBS ou Solução Fisiológica 0,9%, e ressuspender a 2-3% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
5. Colocar em um tubo teste identificado: 1 volume de soro teste e 1 volume da suspensão de hemácias tratadas com Papenzyme-Plus.
6. Misturar cuidadosamente e incubar a 37° C por 15 minutos.
7. Centrifugar todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um tempo e força alternativos adequados.
8. Ressuspender suavemente o botão de hemácias e examinar macroscopicamente a presença de aglutinação.

#### Técnica em dois estágios (usando hemácias a 2-3%)

1. Preparar uma suspensão a 2-3% de hemácias teste lavadas em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar em um tubo teste identificado: 1 volume do reagente Papenzyme-Plus Lorne e 2 volumes da suspensão de hemácias.
3. Misturar cuidadosamente e incubar a 37° C por 15 minutos.
4. Lavar as hemácias 3 vezes com PBS ou Solução Fisiológica 0,9% e ressuspender a 2-3% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
5. Colocar em um tubo teste identificado: 1 volume de soro teste e 1 volume da suspensão de hemácias tratadas com Papenzyme-Plus.
6. Misturar cuidadosamente e incubar a 37° C por 15 minutos.
7. Centrifugar todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um tempo e força alternativos adequados.
8. Ressuspender suavemente o botão de hemácias e examinar macroscopicamente a presença de aglutinação.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. **Positivo:** A aglutinação das hemácias constitui um resultado positivo, dentro das limitações aceitas para o procedimento.
2. **Negativo:** Nenhuma aglutinação das hemácias constitui um resultado negativo dentro das limitações aceitas para o procedimento.

## ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Todos os tubos devem ser lidos imediatamente após a centrifugação.
2. Deve-se ter cuidado na interpretação dos resultados dos ensaios realizados em temperaturas diferentes das recomendadas.

## LIMITAÇÕES

1. Todas as preparações enzimáticas estão sujeitas a uma certa perda de potência durante o armazenamento. Por conseguinte, poderá ser necessário aumentar o tempo de tratamento recomendado próximo à data de validade da preparação, a fim de assegurar o máximo de sensibilidade.
2. Relações incorretas de Papenzyme-Plus podem resultar em hemólise excessiva da suspensão celular.
3. A técnica padrão em um estágio é um método conveniente para se utilizar com reagentes para grupamento sanguíneo potentes, mas é relativamente insensível na detecção de anticorpos ou em testes de compatibilidade. Isto se deve à presença de inibidores da protease no soro, e também pela capacidade da Papaína em clivar moléculas de imunoglobulina.
4. Cuidados devem ser tomados para manter a esterilidade da preparação enzimática, uma vez que facilmente se tornam contaminadas com microorganismos que podem resultar em reações falso-negativas ou falso-positivas.
5. Testes com enzimas não detectam todos os anticorpos com provável significado clínico.
6. Incubação excessiva pode causar reações positivas fracas ou falso-negativas devido à degradação enzimática das moléculas de imunoglobulina.
7. Resultados falso-positivos ou falso-negativos podem ocorrer devido a:
  - Contaminação ou omissão do material a testar
  - Concentração celular inadequada
  - Tempo de incubação ou temperatura inadequada
  - Centrifugação inadequada ou excessiva.
  - Armazenamento inadequado dos materiais de teste
  - Desvio das técnicas recomendadas

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. O reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas **Técnicas Recomendadas**.
2. Antes de ser liberado, cada lote de Papenzyme-Plus Lorne é testado pelas **Técnicas Recomendadas** contra um painel de hemácias para assegurar reatividade adequada.
3. O reagente está de acordo com recomendações do último artigo Guia de Transfusão de Sangue de United Kingdom.

## GARANTIA

O usuário é responsável pelo desempenho dos reagentes e outras técnicas não recomendadas. Qualquer desvio das Técnicas Recomendadas deve ser validado antes do uso (6).

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.





## BIBLIOGRAFIA

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 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.

## APRESENTAÇÕES

Papenzyme-Plus	1 x 10 mL
	10 x 10 mL

## QUADRO DE SÍMBOLOS

REF	Número do catálogo		Prazo de validade
IVD	Para diagnóstico in vitro	LOT	Número de lote
	Fabricante		Ler as Instruções de Uso
	Conservar a		

## INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Fabricado por:  
**Lorne Laboratories Ltda**  
Unit 1 Danehill  
Cutbush Park Industrial Estate  
Lower Earley  
READING  
Berks, RG6 4UT  
United Kingdom

Importado e Distribuído por:  
**Koalent do Brasil Ltda.**  
Rua Cristóvão Sardenha, 110 – Jd. Bom Retiro  
São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350  
www.koalent.com.br  
CNPJ: 04.842.199/0001-56  
Farm. Resp.: Jorge A. Janoni CRF: 2648-RJ  
MS: 80115310128  
**SAC: sac@koalent.com.br - (21) 3907-2534**