

EXCELLYSE I

Kat. č. ED7065

1. Určený účel prostředku

Účel použití

Lyzační roztok EXCELLYSE I umožňuje lyzi červených krvinek po značení leukocytů ve vzorku lidské periferní krve. Tento lyzační roztok je vhodný pro použití se značenými protilátkami EXBIO včetně reagenční produktové řady KOMBITEST. Lyzační činidlo může být použito v rámci promývacího (lyse/wash) a nepromývacího (lyse/no wash) protokolu.

Souvislost s fyziologickým nebo patologickým stavem

Analýza a detekce leukocytů z lidské periferní krve pomocí průtokové cytometrie vyžaduje odstranění červených krvinek - erytrocytů. Alternativně používaná metoda Ficollého dělení na základě hustoty, umožňující separaci leukocytů z plné krve, je časově náročná a dochází při ní ke ztrátám určitých populací leukocytů. V klinických laboratořích nahrazuje tuto metodu přímé značení protilátkami ve vzorku plné krve, následované lyzí červených krvinek, které přináší rychlé a přesné výsledky.

2. Princip testu

n/a

3. Poskytované materiály

Obsah balení (100 ml) postačuje na provedení přibližně 500 - 1000 testů. Lyzační roztok je dodáván připravený k okamžitému použití.

4. Nutné, ale neposkytované materiály

Nezbytný materiál pro odběr periferní krve
Vhodné 5ml zkumavky (12 x 75 mm)
Pufr PBS

Demineralizovaná voda
Vhodné fluorescenčně značené protilátky

5. Nutná zařízení

Automatické pipety s jednorázovými špičkami
Vortex
Centrifuga
Průtokový cytometr

6. Skladování a manipulace

EXCELLYSE I skladujte při teplotě 2-25 °C.

7. Výstrahy, předběžná opatření a omezení

- Souprava je určena pro *In vitro* diagnostiku v laboratořích mimo USA a Kanadu. Souprava je ve shodě s evropskou směrnicí pro *In vitro* diagnostické zdravotnické prostředky 98/79/EC.
- Nepoužívejte reagenční po uplynutí doby použitelnosti.
- Nepoužívejte reagenční v případě, že změni barvu, nebo se v jejím obsahu objeví precipitát.
- Obsah lahvičky nesmí zmraznout.
- Chraňte obsah lahvičky před kontaminací.
- Krevní vzorky jsou považovány za potenciálně infekční materiál, a proto s nimi musí být náležitě nakládáno. Vyvarujte se kontaktu vzorků s pokožkou, očima a sliznicemi.
- Vzorky krve jsou považovány za potenciálně infekční materiál, pracujte výhradně v ochranných rukavicích a při práci dodržujte správné postupy pro zacházení s potenciálně infekčním materiálem.
- Reagenčie obsahuje formaldehyd a metanol.
H-věty
H302+H312+H332: Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží a při vdechování.
H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.
H351: Podezření na vyvolání rakoviny.
P-věty
P270: Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte.
P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.
P301+312: PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
P302+352: PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdlem.
P305+351+338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
P501: Odstraňte obsah/obal v autorizovaném místě sběru nebezpečných odpadů.
- Úplné informace o potenciálních nebezpečích a bezpečném způsobu práce s produktem najdete v bezpečnostním listu produktu.
- Průtokový cytometr může poskytovat špatné hodnoty, pokud není dobře seřízen a udržován.
- Nedodržení popsaného lyzačního protokolu

může ovlivnit výsledky testů.

8. Vzorek

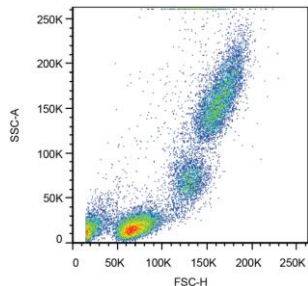
Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).

9. Postup

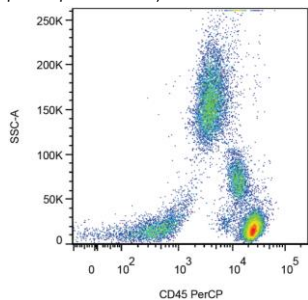
Lyzační protokol Lyse/no wash

- Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
- Provedte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
- Přidejte **100 µl lyzačního roztoku na 50 µl plné krve** a zkumavku promíchejte vortexem.
- Inkubujte vzorek 2-5 minut při laboratorní teplotě.
- Do zkumavky přidejte **1 ml demineralizované vody**, promíchejte a vyčkejte přibližně 5-10 minut, dokud se vzorek nevyčerí.
- Ohledně obarvení analyzujte vzorek pomocí průtokového cytometru, případně do 24 hod za předpokladu, že je uskladněn v temnu při 2-8 °C. Buňky není potřeba dodatečně fixovat. Vzorová data jsou zobrazena na obrázcích 1 a 2.

Obr. 1: Dot-plot leukocytů z periferní krve lyzované podle protokolu Lyse/no wash. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.



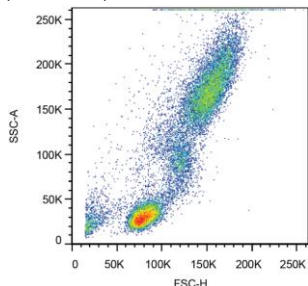
Obr. 2: Identifikace CD45+ lymfocytů ve vzorku krve značeném protilátkou proti CD45, lyzováno pomocí protokolu Lyse/no wash. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.



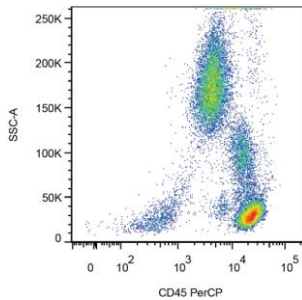
Lyzační protokol Lyse/wash

- Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
- Provedte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
- Přidejte **100 µl lyzačního roztoku na 50 µl plné krve** a zkumavku promíchejte vortexem.
- Inkubujte vzorek 2-5 minut při laboratorní teplotě.
- Do zkumavky přidejte **2-3 ml demineralizované vody**, promíchejte a vyčkejte přibližně 5-10 minut, dokud se vzorek nevyčerí.
- Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
- Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 0,2-0,5 ml PBS.
- Ohledně obarvení analyzujte vzorek pomocí průtokového cytometru, případně do 24 hod za předpokladu, že je uskladněn v temnu při 2-8 °C. Buňky není potřeba dodatečně fixovat. Vzorová data jsou zobrazena na obrázcích 3 a 4.

Obr. 3: Dot-plot leukocytů z periferní krve lyzované podle protokolu Lyse/wash. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.



Obr. 4: Identifikace CD45+ lymfocytů ve vzorku krve označeném protilátkou proti CD45, lyzováno pomocí protokolu Lyse/wash. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™



10. Vlastnosti analytické funkce

Přesnost (opakovatelnost a reprodukovatelnost)

Opakovatelnost byla spočítána ze stanovení leukocytárních subpopulací v jednom vzorku krve pomocí KOMBITEST CD3 FITC/CD16+56 PE a KOMBITEST CD3 FITC/ CD19 PE (oba produkty EXBIO Praha). Stanovení bylo opakováno celkem 10x během jednoho dne.

Subpopulace lymfocytů	n	Průměr	SD	CV (%)
% CD3 ⁺	10	47,4	0,98	2,1
% CD16 ⁺ CD56 ⁺	10	32,9	0,58	1,8
% CD19 ⁺	10	17,3	0,64	3,7

Reprodukovatelnost byla spočítána ze stanovení leukocytárních subpopulací ve vzorku stabilizované krve - Immuno-Troll™ Cells (Beckmann Coulter) pomocí KOMBITEST CD3 FITC / CD16+56 PE a KOMBITEST CD3 FITC / CD19 PE (oba produkty EXBIO Praha). Stanovení byla opakována celkem 14x v průběhu 1 měsíce za použití stejné šarže Immuno-Troll™ cells.

Subpopulace lymfocytů	n	Průměr	SD	CV (%)
% CD3 ⁺	14	72,8	1,94	2,7
% CD16 ⁺ CD56 ⁺	14	11,7	0,87	7,4
% CD19 ⁺	14	13,2	1,16	8,8

11. Vlastnosti klinické funkce

Rušivé látky a omezení

Červené krvinky některých abnormálních pacientů mohou být rezistentní k lyzi pomocí lyzačních roztoků.

Průtokový cytometr může poskytovat špatné hodnoty, pokud není dobře seřízen a udržován. Data mohou být špatně interpretována, pokud jsou fluorescenční signály špatně kompenzované, případně pokud jsou regiony buněk špatně umístěné.

Krevní vzorky od abnormálních pacientů mohou vykazovat abnormální hodnoty procent pozitivních buněk. Antikoagulanty EDTA a citrát ruší analýzu.

Průtokový cytometr může poskytovat špatné hodnoty, pokud není pravidelně kalibrován a udržován.

12. Odkazy

n/a

13. Výrobce

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Czech Republic

info@exbio.cz
technical@exbio.cz
orders@exbio.cz
www.exbio.cz

14. Ochranné známky

n/a

15. Historie revizí

- Verze 1, ED7065_IFU_v1
První vydání.
- Verze 2, ED7065_IFU_v2
Nově byly použity GHS symboly, H- a P- věty.
- Verze 3, ED7065_IFU_v3
Registrovaná ochranná známka přidána k názvu EXCELLYSE®. Změna PSC výrobce z 25242 na 25250.
- Verze 4, ED7065_IFU_v4
Menší objemová verze produktu (30 ml lahvička) již není dále vyráběna, a proto není zmiňována.
- Verze 5, ED7065_IFU_v5
Změna loga výrobce a vzhledu Návodů k použití. Registrační ochranná známka odstraněna z názvu EXCELLYSE.
- Verze 6, ED7065_IFU_v6
Byl upraven text definující omezení použití produktu.

exbio

EXCELLYSE I

100 ml | Kat. č. ED7065

IVD

CE

Návod k použití

Verze ED7065_IFU_v6_CS

Datum vydání: 07-04-2020

CS

Symbyly

REF

Katalogové číslo

LOT

Kód dávky



Použit do data



Omezení teploty

IVD

Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*

CE

Označení shody CE



Čtete návod k použití



Výrobce

Produkt je určen pro In Vitro diagnostické použití. In vivo diagnostické nebo terapeutické aplikace jsou zakázány.

Výrobky nesmějí být použity k dalšímu prodeji nebo převodu třetím osobám ani jako samostatný výrobek, ani jako součást výroby jiného výrobku bez písemného souhlasu EXBIO Praha, a.s.

EXBIO Praha, a.s. nenese odpovědnost za porušení patentu ani za žádné další porušení práv duševního vlastnictví, ke kterým může dojít při používání těchto produktů. Objednávky na všechny produkty jsou přijímány v souladu s pravidly a podmínkami dostupnými na www.exbio.cz. EXBIO, EXBIO Logo a všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti EXBIO Praha, a.s.