



# EXCELLYSE® Easy 100 ml

## 10x concentrated lysing solution

REF ED7066



ENGLISH

### 1. Intended use

The EXCELLYSE® Easy lysing solution is intended for red blood cell lysis following antibody staining of human peripheral blood leukocytes.

The lysing solution is appropriate for use with EXBIO single colour monoclonal antibodies and KOMBITEST™ reagents and may be used in both lyse/wash and lyse/no wash protocol.

### 2. Introduction

Leukocyte analysis and detection in peripheral blood requires elimination of interfering cells, mainly erythrocyte. Ficoll density gradient method is usually used to separate leukocytes from whole blood. This method is rather time consuming and may lead to a loss of certain leukocyte subsets. Direct blood sample staining followed by red blood cell lysis therefore takes place in clinical laboratories as a fast and accurate method for whole blood flow cytometry analysis.

### 3. Reagent provided

The content of the vial (100 ml) is sufficient for 1000-2000 tests, respectively. The lysing solution is a 10× concentrated and **must be diluted 10× with deionized water prior to use (1 volume of concentrated solution with 9 volumes of deionized water).**

### 4. Storage

10× concentrated EXCELLYSE® Easy store at 2-25 °C. The prepared solution (1× concentrated) is stable for 1 month when stored at room temperature.

### 5. Precautions

- Intended for In Vitro Diagnostic use in laboratories outside USA and Canada. This CE-IVD reagent is in conformity with the European In Vitro Diagnostic Medical Device Directive 98/79/EC.
- Do not use after expiration date stamped on vial label.
- Do not use if any discoloration or precipitation occurs.
- Do not freeze.
- Avoid contamination of the reagent.
- Any non-performance of lysing protocol may produce false results.

- Blood samples are considered as potentially infectious and must be handled with care. Avoid all contact of the sample with the skin, eyes and mucosa.

**Warning:** The reagent contains formaldehyde, methanol and diethyleneglycol.

Danger



#### H-phrases

H302+H312+H332: Harmful if swallowed, in contact with skin or if inhaled.

H315: Causes skin irritation.

H317: May cause an allergic skin reaction.

H319: Causes serious eye irritation.

H335: May cause respiratory irritation.

H351: Suspected of causing cancer.

H371: May cause damage to organs.

H373: May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.

#### P-phrases

P270: Do not eat, drink or smoke when using this product.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P301 + P312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.

P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P501: Dispose of contents/container to authorized facility for dangerous wastes.

### 6. Necessary material not supplied

Material necessary for collection of peripheral blood, test tubes for blood sample staining (e.g. 12 × 75 mm), automatic pipettes with disposable tips, vortex mixer, centrifuge, phosphate buffered saline (PBS), deionized water, appropriate fluorescent-dye-labeled primary/secondary antibody, flow cytometer.

## 7. Lyse/**no wash** lysing protocol

1. Collect peripheral blood in a sterile tube with an anticoagulant (e.g. Heparin, EDTA).
2. Follow instructions for whole blood antibody staining.
3. **Add 450 µl of diluted lysing solution per 50 µl of whole blood.** Mix the tube with a vortex mixer.
4. Incubate for about 5-10 minutes, until the blurry blood sample solution becomes clear.
5. Analyze the sample immediately using flow cytometer or store the sample at 2-8°C in the dark and analyze within 24 hours. No further cell fixation is required. See figures 1 and 2 for example data.

## 8. Lyse/**wash** lysing protocol

1. Collect peripheral blood in a sterile tube with an anticoagulant (e.g. Heparin, EDTA).
2. Follow manufacturer's instructions for whole blood antibody staining.
3. **Add 1000 µl of diluted lysing solution per 50 µl of whole blood.** Mix the tube with a vortex mixer.
4. Incubate for about 5-10 minutes, until the blurry blood sample solution becomes clear.
5. Centrifuge the tube for 5 minutes at 300 g.
6. Remove supernatant and resuspend the pellet with 0.2 – 0.5 ml of PBS.
7. Analyze the sample immediately using flow cytometer or store the sample at 2-8 °C in the dark and analyze within 24 hours. No further cell fixation is required. See figures 3 and 4 for example data.

## 9. Limitations

- Red blood cells from abnormal patients may be resistant to lysis using lysing solutions.
- Flow cytometer may produce false results if the device has not been aligned and maintained appropriately.
- Data may be incorrectly interpreted if fluorescent signals were compensated wrongly or if gates were positioned inaccurately.
- Blood samples from abnormal patients may exhibit abnormal values of positive cells.

## 1. Použití

Lyzační roztok EXCELLYSE® Easy umožňuje lyzi červených krvinek po značení leukocytů v lidské periferní krvi.

Tento lyzační roztok je vhodný pro použití se značenými protilátkami EXBIO včetně reagentů produktové řady KOMBITEST™. Lyzační činidlo může být použito v rámci promývacího (lyse/wash) a nepromývacího (lyse/no wash) protokolu.

## 2. Úvod

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

## 3. Popis reagentie

Obsah balení (100 ml) postačuje na provedení přibližně 1000-2000 testů. Lyzační roztok je dodáván 10× koncentrovaný a **musí být před použitím 10× naředěn deionizovanou vodou (1 díl reagentie do 9 dílů vody).**

## 4. Skladování

10× koncentrovaný roztok EXCELLYSE® Easy skladujte při teplotě 2-25 °C. Naředěný lyzační roztok skladujte za laboratorní teploty po dobu maximálně 1 měsíce.

## 5. Upozornění

- Reagentie je určena pro In vitro diagnostiku a vyhovuje požadavkům NV 453/2004 Sb., které je harmonizováno s evropskou směrnicí pro In vitro diagnostické zdravotnické prostředky 98/79/EC.
- Nepoužívejte reagentii po uplynutí doby použitelnosti vyznačené na štítku lahvičky.
- Nepoužívejte reagentii v případě, že změní barvu, nebo se v jejím obsahu objeví precipitát.
- Obsah lahvičky nesmí zmrznout.
- Chraňte obsah lahvičky před kontaminací.
- Nedodržení postupu měření může ovlivnit výsledky testu.
- 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.

**Varování:** Lyzační roztok obsahuje formaldehyd, metanol a diethylenglykol.

Nebezpečí



## H-věty

H302+H312+H332: Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží a při vdechování.

H315: Dráždí kůži.

H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

H335: Může způsobit podráždění dýchacích cest.

H351: Podezření na vyvolání rakoviny.

H371: Může způsobit poškození orgánů.

H373: Může způsobit poškození ledvin při prodloužené nebo opakované expozici.

## 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 KÚŽÍ: 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 lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P501: Odstraňte obsah/obal v autorizovaném místě sběru nebezpečných odpadů.

## 6. Potřebné vybavení a materiál, který není dodáván

Nezbytný materiál pro odběr periferní krve, vhodné zkumavky pro barvení buněk (např. 12 x 75 mm), sada pipet s jednorázovými špičkami, centrifuga, vortex, pufr PBS, deionizovaná voda, vhodné protilátky, průtokový cytometr.

## 7. Lyzační protokol Lyse/no wash

1. Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
2. Proveďte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
3. Přidejte **450 µl naředěného lyzačního roztoku na 50 µl plné krve** a zkumavku promíchejte vortexem.
4. Inkubujte vzorek 5-10 minut při laboratorní teplotě, dokud se vzorek nevyčeří.
5. Ihned po obarvení analyzujte vzorek pomocí průtokového cytometru, případně do 24 hod za předpokladu, že je uskladněn v temnu při 2-8 °C. Buňky není potřeba dále fixovat. Vzorová data jsou zobrazena na obrázcích 1 a 2.

## 8. Lyzační protokol Lyse/wash

1. Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
2. Proveďte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
3. Přidejte **1000 µl naředěného lyzačního roztoku na 50 µl plné krve** a zkumavku promíchejte vortexem.
4. Inkubujte vzorek 5-10 minut při laboratorní teplotě, dokud se vzorek nevyčeří.
5. Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
6. Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 0,2-0,5 ml PBS.

7. Ihned po obarvení analyzujte vzorek pomocí průtokového cytometru, případně do 24 hod za předpokladu, že je uskladněn v temnu při 2-8 °C. Buňky není potřeba dále fixovat. Vzorová data jsou zobrazena na obrázcích 3 a 4.

## 9. Omezení metody

- 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.

## SLOVENSKY

### 1. Použitie

EXCELLYSE® Easy lyzačný roztok umožňuje lýzu červených krviniek po označení leukocytov protilátkou v ľudskej periférovej krvi.

Tento lyzačný roztok je vhodný pre použitie s EXBIO označenými monoklonovými protilátkami vrátane produktovej rady KOMBITEST™ reagensii. Môže byť použitý v oboch procesoch lyzovania: protokol lýza/premytie (lyse/wash) a lýza/bez premytia (lyse/no wash).

### 2. Úvod

Analýza a detekcia leukocytov v ľudskej periférovej krvi si vyžaduje odstránenie neanalyzovaných buniek - erytrocytov. Alternatívne používaná metóda Ficolloveho oddeľovania na základe hustoty, umožňujúca separáciu leukocytov z plnej krvi, je časovo náročná a dochádza pri nej ku stratám buniek určitých populácií lymfocytov. V klinických laboratóriách nahrádza túto metódu priame značenie krvi protilátkou, nasledované lýzou červených krviniek a analýzou na prietokovom cytometri, ktorá je rýchla a presná.

### 3. Popis reagensie

Obsah balenia (100 ml) postačuje približne pre 1000-2000 testov. Lyzačný roztok sa dodáva ako 10× koncentrovaný a **musí byť pred použitím 10x nariedený deionizovanou vodou (1 diel koncentrovanej reagensie do 9 dielov vody)**.

### 4. Skladovanie

10× koncentrovaný EXCELLYSE® Easy skladujte pri teplote 2-25 °C. Nariedený lyzačný roztok skladujte pri laboratórnej teplote po dobu maximálne 1 mesiaca.

### 5. Upozornenie

- Reagensia je určená pre In vitro diagnostiku a vyhovuje požiadavkám európskej smernice pre In vitro diagnostické zdravotnícke prostriedky 98/79/EC.

- Nepoužívajte po uplynutí doby použiteľnosti vyznačenej na štítku fľaštičky.
- Roztok nepoužívajte v prípade, že zmení farbu alebo sa v jeho obsahu objaví precipitát.
- Obsah fľaštičky nesmie zmznúť
- Zabráňte kontaminácii roztoku.
- Nedodržanie postupu merania môže ovplyvniť výsledky testu.
- Krvné vzorky sú považované za potenciálne infekčný materiál a preto sa s nimi musí zaobchádzať opatrne. Vyvarujte sa kontaktu vzoriek s pokožkou, očami a sliznicami.

**Varovanie:** Lyzačný roztok obsahuje formaldehyd, metanol a dietylén glykol.

Nebezpečenstvo



#### H-vety

H302+H312+H332: Zdraviu škodlivý pri požití, pri kontakte s pokožkou a pri vdychnutí.

H315: Dráždi kožu.

H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

H335: Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.

H351: Podozrenie na vyvolanie rakoviny.

H371: Môže spôsobiť poškodenie orgánov.

H373: Môže spôsobiť poškodenie orgánov pri dlhšej alebo opakovanej expozícii.

#### P-vety

P270: Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčíte.

P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

P301+312: PO POŽITÍ: Pri zdravotných problémoch volajte Národné toxikologické informačné centrum alebo lekára.

P302+352: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydla.

P305+351+338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P501: Zneškodnite obsah/nádobu v autorizovanom mieste zberu nebezpečných odpadov.

## 6. Potrebné vybavenie a materiál, ktorý nie je dodávaný

Materiál potrebný na odber periférnej krvi, vhodné skúmavky pre značenie buniek (napr. 12 × 75 mm), sada pipiet s jednorázovými špičkami, centrifúga, vortex, PBS tlmivý roztok, deionizovaná voda, vhodné protilátky, prietokový cytometer.

## 7. Lyse/no wash lyzačný protokol

1. Odoberte periférnu krv do sterilnej odberovej skúmavky obsahujúcej antikoagulant (napr. Heparín, EDTA).
2. Pokračujte značením plnej krvi protilátkou podľa návodu od výrobcu protilátky.
3. Pridajte **450 µl nariedeného lyzačného roztoku k 50 µl plnej krvi** a skúmavku premiešajte na vortexe.
4. Inkubujte vzorku 5-10 minút pri laboratórnej teplote, kým sa krvná zmes nevyčíri.

5. Vzorku analyzujte na prietokovom cytometri ihneď po označení, najneskôr však do 24 hodín za predpokladu, že sú skladované v temne pri 2-8°C. Fixácia buniek nie je potrebná. Vzorové dáta sú zobrazené na obrázkoch 1 a 2.








## 8. Lyse/wash lyzačný protokol

1. Odoberte periférnu krv do sterilnej odberovej skúmavky obsahujúcej antikoagulant (napr. Heparín, EDTA).
2. Pokračujte značením plnej krvi protilátkou podľa návodu od výrobcu protilátky.
3. Pridajte **1000 µl nariedeného lyzačného roztoku k 50 µl plnej krvi** a skúmavku premiešajte na vortexe.
4. Inkubujte vzorku 5-10 minút pri laboratórnej teplote, kým sa krvná zmes nevyčíri.
5. Centrifugujte skúmavku 5 minút pri 300 g.
6. Odstráňte supernatant a resuspendujte sediment pomocou 0,2-0,5 ml PBS.
7. Vzorku analyzujte na prietokovom cytometri ihneď po označení, najneskôr však do 24 hodín za predpokladu, že sú skladované v temne pri 2-8°C. Fixácia buniek nie je potrebná. Vzorové dáta sú zobrazené na obrázkoch 3 a 4.

## 9. Obmedzenia metódy

- Červené krvinky niektorých abnormálnych pacientov môžu byť rezistentné voči lýze pomocou lyzačných roztokov.
- Prietokový cytometer môže poskytovať nepresné výsledky, ak nie je dobre nastavený a udržiavaný.
- Dáta môžu byť zle interpretované, ak sú fluorescenčné signály nedostatočne kompenzované alebo ak sú regióny buniek zle umiestnené.
- Krvné vzorky od abnormálnych pacientov môžu vykazovať abnormálne percentuálne hodnoty pozitívnych buniek.

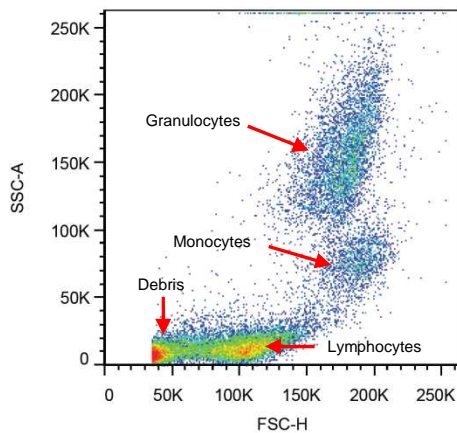
**10. Explanation of symbols / Vysvětlení symbolů / Vysvetlenie symbolov**

	In Vitro Diagnostic Medical Device In vitro diagnostický zdravotnický prostředek In vitro diagnostický zdravotnícky prostriedok
	Catalog number Katalogové číslo Katalógové číslo
	Manufacturer identification Výrobce Výrobca
	Consult the manual before use Viz návod k použití Vid' návod na použitie
	Store within temperature limits Rozmezí skladovacích teplot Rozmedzie skladovacích teplôt
	Batch code Číslo šarže
	Use by Použitelné do Použitelné do

**11. Manufacturer / Výrobce / Výrobca**

**EXBIO Praha, a.s.**  
 Nad Safinou II 341  
 252 50 Vestec, Czech Republic  
 Tel: +420 261 090 666  
 Fax: +420 261 090 660  
 E-mail: [orders@exbio.cz](mailto:orders@exbio.cz)  
<http://www.exbio.cz>

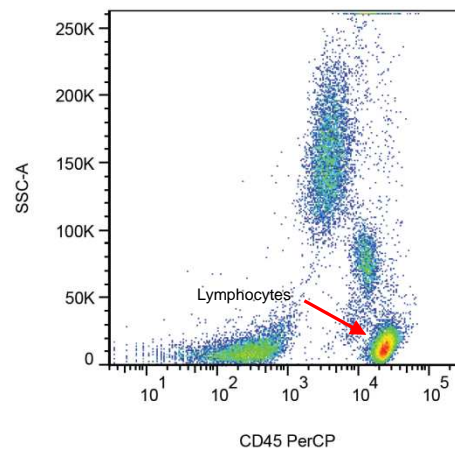
## 12. Example data / Vzorová data / Vzorové dáta



**Fig. 1:** Peripheral blood leukocytes dot-plot from **lysed/non-washed** whole blood, analyzed on BD FACSCanto™ cytometer.

**Obr. 1:** Vyobrazení leukocytů periferní krve ve FSC vs. SSC dot-plotu lyzované pomocí protokolu **Lyse/no wash**. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.

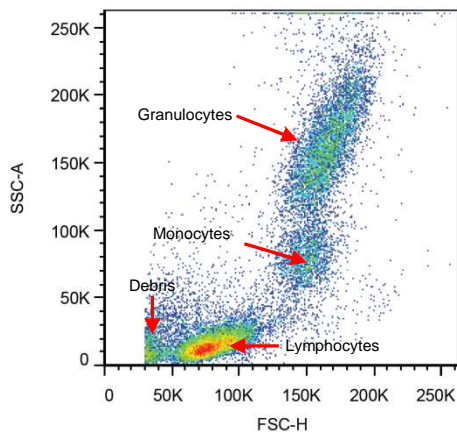
**Obr. 1:** Vyobrazenie leukocytov periférnej krvi lyzovanej pomocou protokolu **Lyse/no wash** do FSC vs. SSC dot-plotu. Analýza na prietokovom cytometri BD FACSCanto™.



**Fig. 2:** Identification of CD45+ lymphocyte population in **lysed/non-washed** whole blood stained with anti-CD45 antibody, analyzed on BD FACSCanto™ cytometer.

**Obr. 2:** Identifikace lymfocytů v krvi značené protilátkou proti CD45, lyzované pomocí protokolu **Lyse/no wash**. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.

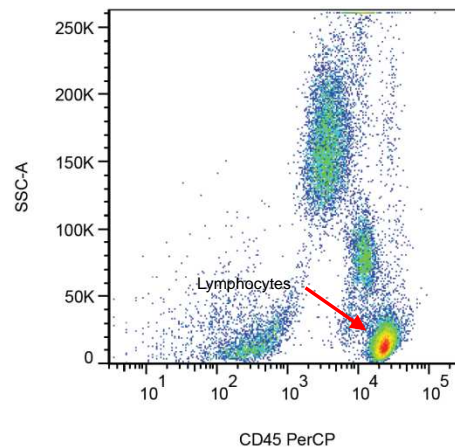
**Obr. 2:** Identifikácia lymfocytov v krvi značenej protilátkou proti CD45, lyza pomocou protokolu **Lyse/no wash**. Analýza na prietokovom cytometri BD FACSCanto™.



**Fig. 3:** Peripheral blood leukocytes dot-plot from **lysed/washed** whole blood, analyzed on BD FACSCanto™ cytometer.

**Obr. 3:** Vyobrazení leukocytů periferní krve ve FSC vs. SSC dot-plotu lyzované pomocí protokolu **Lyse/wash**. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.

**Obr. 3:** Vyobrazenie leukocytov periférnej krvi lyzovanej pomocou protokolu **Lyse/wash** do FSC vs. SSC dot-plotu. Analýza na prietokovom cytometri BD FACSCanto™.



**Fig. 4:** Identification of CD45+ lymphocyte population in **lysed/washed** whole blood stained with anti-CD45 antibody, analyzed on BD FACSCanto™ cytometer.

**Obr. 4:** Identifikace lymfocytů v krvi značené protilátkou proti CD45, lyzované pomocí protokolu **Lyse/wash**. Analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.

**Obr. 4:** Identifikácia lymfocytov v krvi značenej protilátkou proti CD45, lyza pomocou protokolu **Lyse/wash**. Analýza na prietokovom cytometri BD FACSCanto™.