

EXCELLYSE Easy

Kat.č. ED7066

1. Určený účel prostředku

Účel 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 reagenცი 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 v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie vyžaduje odstranění červených krvinek – erytrocytů. Alternativně používaná metoda Ficollova 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.

2. Princip testu

Vzorek plné periferní krve je obarven reagenცი, která obsahuje specifické monoklonální protilátky značené odlišnými fluorescenčními značkami. Monoklonální protilátky se vážou specificky na povrchové antigeny leukocytů. Obarvený krevní vzorek je poté vystaven působení lyzačního roztoku EXCELLYSE Easy, které lyzuje červené krvinky za hypotonických podmínek a chrání leukocyty obarvené monoklonálními protilátkami pro následnou analýzu metodou průtokové cytometrie.

3. Poskytované materiály

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

4. Nutné, ale neposkytované materiály

Nezbytný materiál pro odběr periferní krve
Vhodné zkumavky pro barvení buněk (např. 12 x 75 mm)
Pufr PBS
Deionizovaná voda
Vhodné fluorescenčně značené protilátky

5. Nutná zařízení

Sada pipet s jednorázovými špičkami
Vortex
Centrifuga
Průtokový cytometr

6. Skladování a manipulace

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

7. Výstrahy, předběžná opatření a omezení

- Reagenცი je určena pro In vitro diagnostiku a vyhovuje požadavkům NV 56/2015 Sb., které je harmonizováno s evropskou směrnicí pro In vitro diagnostické zdravotnické prostředky 98/79/EC.
- Nepoužívejte reagenცი po uplynutí doby použitelnosti vyznačené na štítku lahvičky.
- Nepoužívejte reagenცი v případě, že změni barvu, nebo se v jejím obsahu objeví precipitát.
- Obsah lahvičky nesmí zmraznout.
- Chraňte obsah lahvičky před kontaminací.
- Nedodržení popsaného lyzačního protokolu 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
- Reagenცი obsahuje formaldehyd, methanol and diethylenglykol.

H-věty

- H302: Zdraví škodlivý při požití
- H315: Dráždí kůži.
- H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.
- H319: Způsobuje vážné podráždění očí.
- H335: Může způsobit podráždění dýchacích cest.
- H341: Podezření na genetické poškození.
- H350: Může vyvolat rakovinu.
- H373: Může způsobit poškození ledvin při prodloužené nebo opakované expozici.

P-věty

- P202: Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny pokyny pro bezpečné zacházení a neporozumíte jim.

P270: Při používání tohoto výrobku nejzte, nepijte ani nekuřte.

P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

P301+P312: PŘI POŽITÍ: Nečistě-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMÁČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

P302+P352: PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdlem.

P332+P313: Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P304+P340: PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání.

P305+P351+P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyměte kontaktní čočky, jsou-li nasazené, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

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

- 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 umístěny.
- Krevní vzorky od abnormálních pacientů mohou vykazovat abnormální hodnoty procent pozitivních buněk.

8. Vzorek

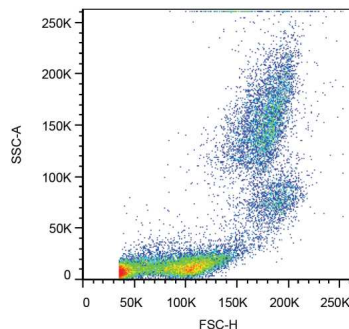
Analýzovaným vzorkem je lidská periferní plná krev. Krev musí být odebrána do zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA). Obarvený vzorek krve musí být obarvením a lyzou uchován v odběrové zkumavce. Skladovací podmínky krevního vzorku po odběru naleznete v Návodě k použití protilátkové reagenცი.

9. Postup

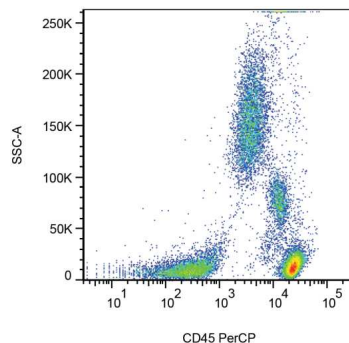
Lyzační protokol Lyse/no wash

- Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
- Proveďte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
- Přidejte 450 µl naředěného lyzačního roztoku na 50 µl plné krve a zkumavku promíchejte vortexem.
- Incubujte vzorek 5-10 minut při laboratorní teplotě, dokud se vzorek nevyčerí.
- lhně 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.

Obr. 1: Vyobrazení leukocytů periferní krve ve FSC vs. SSC dot-plotu, lyzované pomocí protokolu Lyse/no wash.



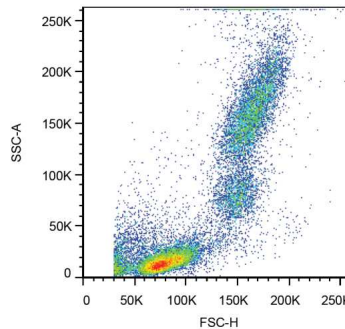
Obr. 2: Identifikace lymfocytů v krvi značené protilátkou proti CD45, lyzované pomocí protokolu Lyse/no wash.



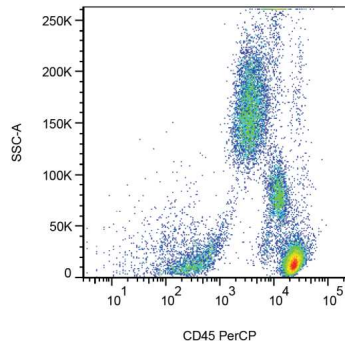
Lyzační protokol Lyse/wash

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

Obr. 3: Vyobrazení leukocytů periferní krve ve FSC vs. SSC dot-plotu, lyzované pomocí protokolu Lyse/wash.



Obr. 4: Identifikace lymfocytů v krvi značené protilátkou proti CD45, lyzované pomocí protokolu Lyse/wash.



10. Vlastnosti analytické funkce

Opakovatelnost a reprodukovatelnost

Test opakovatelnosti vzorku pro reagenცი KOMBITEST CD3 FITC / CD16 + CD56 PE / CD45 PerCP / CD19 APC byl proveden v jedné klinické laboratoři. Měření byla prováděna na jednom vzorku krve paralelně ve 12 zkumavkách. Variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulce.

Subpopulace Lymfocytů	n	Průměr	SD	CV
% CD3+	12	47,4	0,98	2,06
% CD16+CD56+	12	32,9	0,58	1,75
% CD19+	12	17,3	0,64	3,68

Test reprodukovatelnosti vzorku pro činidlo KOMBITEST CD3 FITC / CD16 + CD56 PE / CD45 PerCP / CD19 APC byl proveden v jedné klinické laboratoři. Měření byla prováděna na stabilizovaném vzorku krve (Immuno-Troll™ Cells, Beckman-Coulter) za stejných podmínek v časovém rámci 21 dnů. Variační koeficienty (CV) jsou uvedeny v tabulce.

Subpopulace Lymfocytů	n	Průměr	SD	CV
% CD3+	42	72,7	0,96	1,32
% CD16+CD56+	42	11,1	0,86	7,78
% CD19+	42	14,9	0,82	5,48

11. Vlastnosti klinické funkce

n/a

12. Odkazy

n/a

13. Výrobce

EXBIO Praha, a.s.
Nad Saffinou 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, ED7066_IFU_v1
První vydání
- Verze 2, ED7066_IFU_v2
R- a S-věty a symboly nebezpečnosti byly změněny na H- a P-věty a GHS symboly podle nařízení (ES) č. 1272/2008.
- Verze 3, ED7066_IFU_v3
Registrační známka přidána k názvu EXCELLYSE®.
- Změna PSČ výrobce z 25242 na 25250.
- Verze 4, ED7066_IFU_v4
Menší objemová verze produktu (30 ml lahvička) již není dále vyráběna, a proto není zmíněna v Návodě k použití.
- Revize H- a P-vět.
- Verze 5, ED7066_IFU_v5
Změna loga výrobce a vzhledu Návodů k použití. Registrační známka odstraněna z názvu EXCELLYSE.
- Verze 6, ED7066_IFU_v6
Byl upřesněn text definující omezení použití produktu.

exbio

EXCELLYSE Easy

100 ml | Kat.č. ED7066



Návod k použití

Verze ED7066_IFU_v6_CS

Datum vydání: 01-04-2020

CS

Symbole

	Katalogové číslo
	Kód dávky
	Použit do data
	Omezení teploty
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Označení shody CE
	Čtěte 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.