

exbio

EXCELLYSE Easy
100 ml | Kat. č. ED7066

IVD CE

Návod k použití (CS)

Verze: ED7066_IFU_v7_CS
Datum vydání: 15-02-2023

Symboły použité k označení prostředku

IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>		Chránit před slunečním zářením
CE	Označení shody CE		Chránit před vlhkem
	Výrobce	CONTENTS	Obsah
UDI	Jedinečná identifikace prostředku (UDI)		Pozor
	Čtěte návod k použití	CONC 10x	Koncentrovaný roztok (10x)
REF	Katalogové číslo		
LOT	Kód dávky		
	Použít do data		
	Omezení teploty		

1. Určený účel prostředku

EXCELLYSE Easy je lyzační roztok určený k lýzi červených krvinek a fixaci bílých krvinek po obarvení lidské periferní plné krve pomocí konjugovaných protilátek před analýzou v průtokovém cytometru.

Co se zjišťuje a/nebo měří

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

Funkce prostředku

N/A. Činidlo je lyzační roztok určený pro in vitro diagnostické postupy související s analýzou pomocí průtokové cytometrie.

Souvislost s fyziologickým nebo patologickým stavem

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

Typ testu

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

Typ požadovaného vzorku

Vzorek lidské antikoagulované periferní plné krve.

Testovací populace

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

2. Účel použití

Prostředek je určen pouze pro profesionální použití v laboratoři. Prostředek není určen pro vyšetření v blízkosti pacienta nebo přímo u pacienta a není určen pro sebetestování.

Požadavky na kvalifikaci

Uživatel musí mít současné odborné znalosti v oblasti průtokové cytometrie, ovládat standardní laboratorní techniky, včetně pipetování, manipulovat bezpečně a správně se vzorky z lidského těla.

Uživatel musí splňovat normu EN ISO 15189, případně jiné národní legislativní normy.

3. Princip testu

N/A. Činidlo je lyzační roztok způsobující hypotonickou lýzi červených krvinek a zachování bílých krvinek pro analýzu v průtokovém cytometru.

4. Poskytované materiály

Obsah

Prostředek EXCELLYSE Easy vystačí k lýzi 2000 krevních vzorků zpracovaných metodou Lyse/no wash nebo k lýzi 1000 krevních vzorků zpracovaných metodou Lyse/wash a je dodáván ve formátu:

1 láhev (100 ml) obsahující 10X koncentrovaný roztok.

5. Nutné, ale neposkytované materiály

Testovací zkušavky s kulatým dnem (12 x 75 mm)

Deionizovaná voda

Fosfátový pufr (1X PBS), pH 7,4 (0,2 g/l KH_2PO_4 , 1,42 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 8,0 g/l NaCl, 0,2 g/l KCl)

Vhodné primární/sekundární protilátky značené fluorescenční značkou

6. Nutná zařízení

Automatická pipeta s jednorázovými špičkami (50 μl – 1000 μl) pro pipetování vzorků a činidel

Dávkořav kapalin nebo pipeta s jednorázovými špičkami (0,2 ml – 0,5 ml) pro řavkování PBS

Odměrné řavce pro měření objemu deionizované vody a řavinidla EXCELLYSE Easy k řavřavě řyzačního roztoku v jeho řavovní řavcentraci (1X)

Centrifuga

Vortex

Průtokový cytometr

7. Skladování a řavipulace

Skladujte při řavplotě 2-25 °C.

řraňte řav řavřím řav sluneční řavřtlem.

Nezamrazujte.

řnřavce o řavilitě po řavřním řavřvření a řavě řavřitelnosti po řavřním řavřvření, řavlu s řavřmřnkami řavřavování a řavřilitou řavřovních roztoků (v řavřpadě řavřřeby) řavřeznete v řavřsti 10 řavřstup (řavřřavř řavřenciř).

8. řavřtrahy, řavřřvření a řavřezení

GHS řavřřřřavř řavřbezřevnosti

VŘSTRaha: EXCELLYSE Easy (ED7066) řavřahuje 2,2-oxybiseřanol (ř. 111-46-6), řavřaldehyd (ř. 50-00-0) a řavřanol (ř. 67-56-1) v řavřcentracích

klasifikovaných jako nebezpečné.

Prvky označení	Signální slovo
	Nebezpečí
	
H-věty	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. H371 Může způsobit poškození orgánů. H373 Může způsobit poškození ledvin při prodloužené nebo opakované expozici při požití. H302+H312+H332 Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží nebo při vdechování.
P-věty	P201 Před použitím si obstarejte speciální instrukce. P260 Nevdechujte páry. P264 Po manipulaci důkladně omyjte ruce a zasažené části těla. P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle. P362+P364 Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P301+P312 PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte lékaře. P302+P352 PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla. P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P308+P313 PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P314 Necítíte-li se dobře, vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P333+P313 Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Úplné informace o rizicích, která představují chemické látky a směsi obsažené v tomto výrobku a o tom, jak s nimi zacházet a jak je likvidovat, naleznete v Bezpečnostním listu (SDS), který je k dispozici na www.exbio.cz.

Biologické riziko

Lidské biologické vzorky, krevní vzorky a jakékoliv materiály, které s nimi přicházejí do kontaktu, jsou vždy považovány za infekční.

Používejte osobní ochranné a bezpečnostní pomůcky, abyste zabránili kontaktu s kůží, očima a sliznicemi.

Dodržujte všechny platné zákony, předpisy a postupy pro manipulaci a likvidaci infekčních materiálů.

Projevy znehodnocení prostředku

Normální vzhled dodané reagentie je čirá kapalina. Nepoužívejte, pokud pozorujete jakoukoli změnu vzhledu, např. zákal nebo známky precipitace.

Omezení použití

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích výrobku.

9. Vzorek

Použijte žilní periferní krev odebranou do zkumavky klasifikované jako zdravotnický prostředek s antikoagulantem EDTA nebo Heparin.

10. Postup

Příprava reagentů

Před použitím vytemperujte činidlo na pokojovou teplotu.

Naředěte 10X koncentrovaný lyzační roztok na pracovní roztok deionizovanou vodou (1 objem koncentrovaného roztoku a 9 objemů deionizované vody).

Po prvním otevření si činidlo zachovává své funkční charakteristiky až do data expirace, pokud je skladováno za uvedených podmínek v původní primární nádobě.

Naředěný lyzační roztok (1X) je stabilní po dobu 1 měsíce, pokud je skladován v dávkovači kapalin nebo uzavřené nádobě při pokojové teplotě.

Příprava nutných, ale neposkytovaných materiálů

Před použitím vytemperujte deionizovanou vodu a 1X PBS na pokojovou teplotu.

Kontrola kvality

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

Lyse/no wash lyzační protokol

1. Označte každou testovací zkumavku (12 x 75 mm) s kulatým dnem identifikačním údajem vzorku.
2. Při značení plné krve dodržujte pokyny výrobce protilátky.
3. Pipetujte 450-1000 μ l naředěného lyzačního roztoku na 50 μ l plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 5-10 minut při pokojové teplotě.
5. Obarvený vzorek ihned měřte průtokovým cytometrem. V případě, že obarvený vzorek nebude okamžitě změřen, uchovávejte v temnu při 2-8 °C a analyzujte do 24 hodin.

Lyse/wash lyzační protokol

1. Označte každou testovací zkumavku (12 x 75 mm) s kulatým dnem identifikačním údajem vzorku.
2. Při značení plné krve dodržujte pokyny výrobce protilátky.
3. Pipetujte 1000 μ l naředěného lyzačního roztoku na 50 μ l plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 5-10 minut při pokojové teplotě.
5. Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
6. Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment v 0,2 – 0,5 ml 1X PBS.
7. Obarvený vzorek ihned měřte průtokovým cytometrem. V případě, že obarvený vzorek nebude okamžitě změřen, uchovávejte v temnu při 2-8 °C a analyzujte do 24 hodin.

Analýza průtokovým cytometrem

Průtokový cytometr vybraný k použití s prostředkem EXCELLYSE Easy musí být rutinně kalibrován pomocí fluorescenčních mikrokuliček podle pokynů výrobce cytometru, aby byla zajištěna stabilní citlivost detektorů.

Při nesprávné údržbě může průtokový cytometr poskytovat falešné výsledky.

V sekci 6 Nutná zařízení jsou uvedeny potřebné specifikace cytometru pro lasery a fluorescenční detektory podle excitačních a emisních charakteristik fluorochromů.

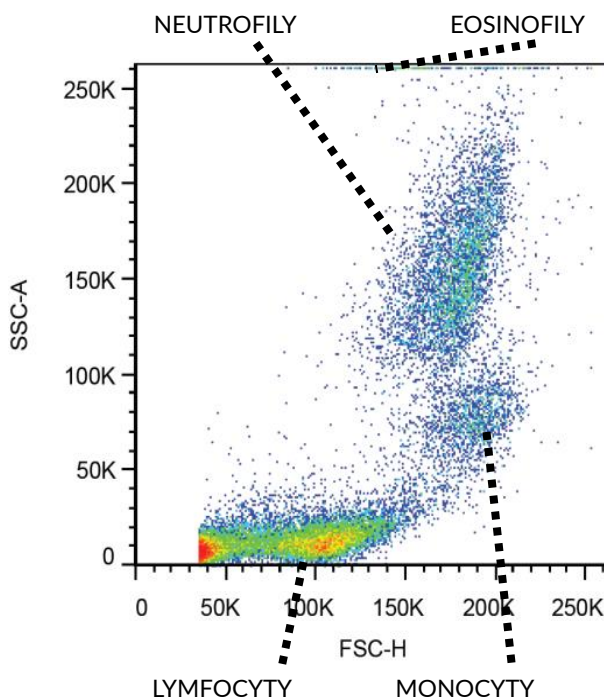
Před analýzou obarveného vzorku nastavte napětí na požadovaných fluorescenčních detektorech. Napětí na fotonásobiči by mělo být nastaveno dostatečně vysoko, aby minimum negativních událostí bylo zaznamenáno v nultém kanálu na ose fluorescence. Napětí na fotonásobiči by také nemělo překročit hodnoty, při kterých jsou pozitivní události natlačeny k pravé ose.

Kompenzujte fluorescenční signály mezi detektory před nebo po sběru dat. Pokud jsou fluorescenční signály nesprávně kompenzovány nebo pokud jsou regiony (gates) umístěny nepřesně, mohou být data nesprávně interpretována.

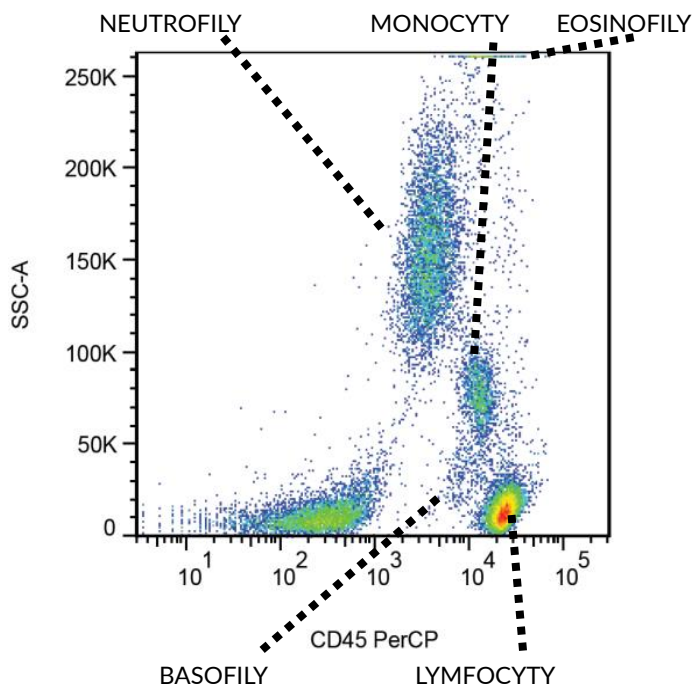
Pro analýzu naměřených dat je možné použít software vyvinutý výrobcem cytometru nebo software určený pro offline analýzu cytometrických dat (např. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Reprezentativní data

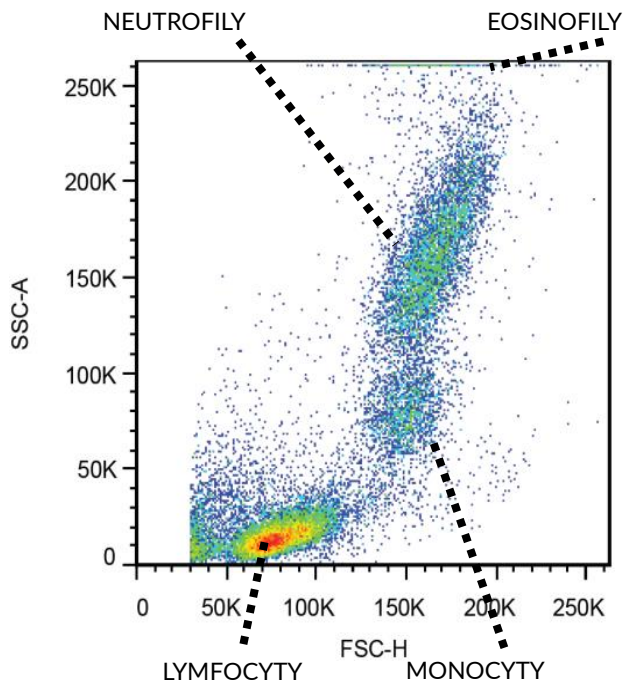
Obrázek 1 Dvourozměrný graf se zvýrazněním density událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE Easy protokolem Lyse/no wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.



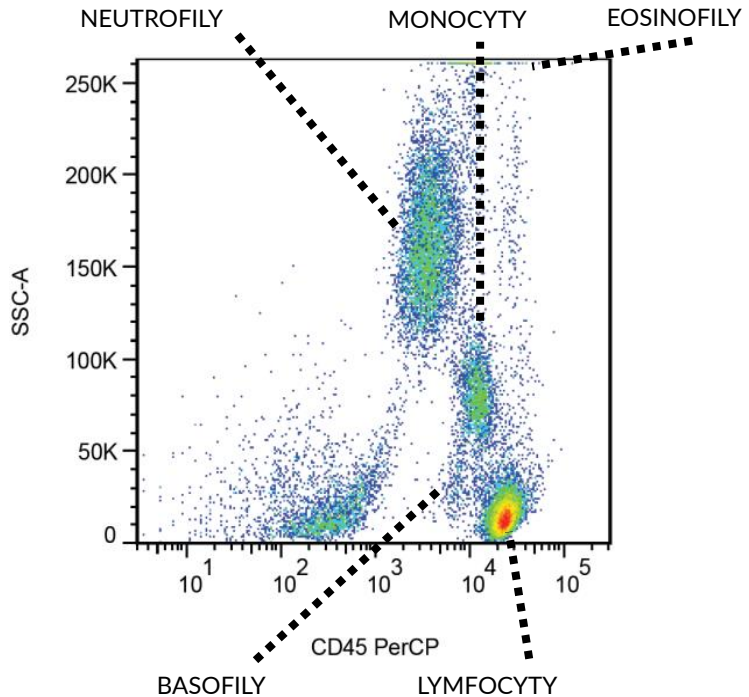
Obrázek 2 Profil značení plné krve obarvené pomocí protilátky anti-CD45 PerCP, zpracované podle protokolu Lyse/no wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.



Obrázek 3 Dvourozměrný graf se zvýrazněním hustoty událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE Easy protokolem Lyse/wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.



Obrázek 4 Profil značení plné krve obarvené pomocí protilátky anti-CD45 PerCP, zpracované podle protokolu Lyse/wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.



Výpočet a interpretace analytických výsledků

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

11. Vlastnosti analytické funkce

Funkce prostředku byla charakterizována testem výtěžnosti bílých krvinek, měřením stability vzorku v čase po jeho zpracování a testem variability mezi zkumavkami při stanovení T-, B-, NK lymfocytů identifikovaných a počítaných pomocí CE IVD prostředku ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color.

Výtěžnost bílých krvinek

Vzorky antikoagulované EDTA (n=13) a heparinem (n=5) byly zpracovány pomocí EXCELLYSE Easy a analyzovány v režimu pre-dilution v automatickém hematologickém analyzátoru SYSMEX XN1000. Výtěžnost byla stanovena jako poměr počtu WBC ve zpracovaném vzorku k počtu WBC v plné krvi před lýzí.

Paralelně byly analyzovány kontrolní vzorky (nelyzované; necentrifugované, naředěné PBS).

Tabulka 1 Výtežnost WBC ze vzorků krve zpracovaných EXCELLYSE Easy

	Výtěžnost WBC	
	Průměr (%)	SD (%)
No wash		
EDTA	94	5
Heparin	95	2
Kontrolní	94	3
Wash		
EDTA	93	4
Heparin	94	3
Kontrolní	97	2

Stabilita vzorku (počtu WBC) v čase po zpracování vzorku

Vzorky antikoagulované EDTA (n=9) a heparinem (n=5) byly zpracovány pomocí EXCELLYSE Easy. Počty bílých krvinek byly analyzovány okamžitě v režimu pre-dilution v automatickém hematologickém analyzátoru SYSMEX XN1000 a znovu po 24 hodinách skladování (přes noc) v chladničce. Změna je uváděna jako procentuální (%) zvýšení nebo snížení.

Tabulka 2 Změna počtu WBC ve vzorcích zpracovaných pomocí EXCELLYSE Easy analyzovaných okamžitě a po 24 hodinách skladování

	Relativní změna počtu WBC	
	Průměr (%)	SD (%)
No wash		
EDTA	-1	2
Heparin	-1	3
Wash		
EDTA	0	5
Heparin	2	2

Stabilita vzorku (počtu T-, B-, NK- lymfocytů) v čase po zpracování vzorku

Vzorky antikoagulované EDTA (n=1) a heparinem (n=1) byly obarveny v hexaplikátech pomocí CE IVD prostředku ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color a zpracovány pomocí EXCELLYSE Easy. Procentuální zastoupení T-, B-, NK- lymfocytů byla okamžitě analyzována pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™ II a znovu po 24 hodinách skladování (přes noc) v chladničce. Průměry a CV (%) jsou uvedeny pro obě měření.

Tabulka 3 Procentuální zastoupení T-, B-, NK-lymfocytů ve vzorcích zpracovaných pomocí EXCELLYSE Easy, analyzovaných okamžitě a po 24 hodinách skladování

	Frekvence lymfocytů (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Průměr	CV (%)	Průměr	CV (%)	Průměr	CV (%)
No wash						
Heparin okamžitá analýza	75,2	0,3	13,3	0,9	8,2	2,2
Heparin po 24 hodinách	78,2	0,9	12,2	5,7	8,4	3,5
EDTA okamžitá analýza	85,3	0,6	7,6	1,7	3,5	1,7
EDTA po 24 hodinách	87,8	0,5	7,0	4,1	3,5	5,0
Wash						
Heparin okamžitá analýza	75,1	0,4	14,6	0,7	8,5	2,0
Heparin po 24 hodinách	76,2	0,4	13,9	2,4	8,6	2,4
EDTA okamžitá analýza	85,5	0,2	9,8	0,6	3,0	4,0
EDTA po 24 hodinách	85,5	0,2	9,8	0,6	3,0	4,0

Opakovatelnost (variabilita mezi zkumavkami)

Opakovatelnost byla měřena jako variabilita mezi zkumavkami při stanovení relativních počtů T-, B- a NK-lymfocytů. Podskupiny lymfocytů byly identifikovány značením plné krve pomocí čtyřbarevného činidla (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color). Hexaplikáty vzorků antikoagulaných EDTA (n=5) a heparinem (n=5) byly zpracovány pomocí EXCELLYSE Easy Wash a No wash protokolů a analyzovány na cytometrech Beckmann Coulter DxFLEX a BD FACSCanto™ II.

Tabulka 4 Variabilita počtu T-, B-, NK- lymfocytů mezi zkumavkami ve vzorcích zpracovaných pomocí EXCELLYSE Easy a analyzovaných pomocí cytometru BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	Frekvence lymfocytů (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Rozsah	CV (%)	Rozsah	CV (%)	Rozsah	CV (%)
No wash						
Heparin	73 - 80	0,6	8 - 19	2,7	7 - 13	2,5
EDTA	58 - 75	0,7	11 - 28	2,2	4 - 19	3,1
Wash						
Heparin	58 - 77	0,5	9 - 31	2,0	4 - 20	1,7
EDTA	77 - 81	0,5	8 - 20	2,2	7 - 14	2,1

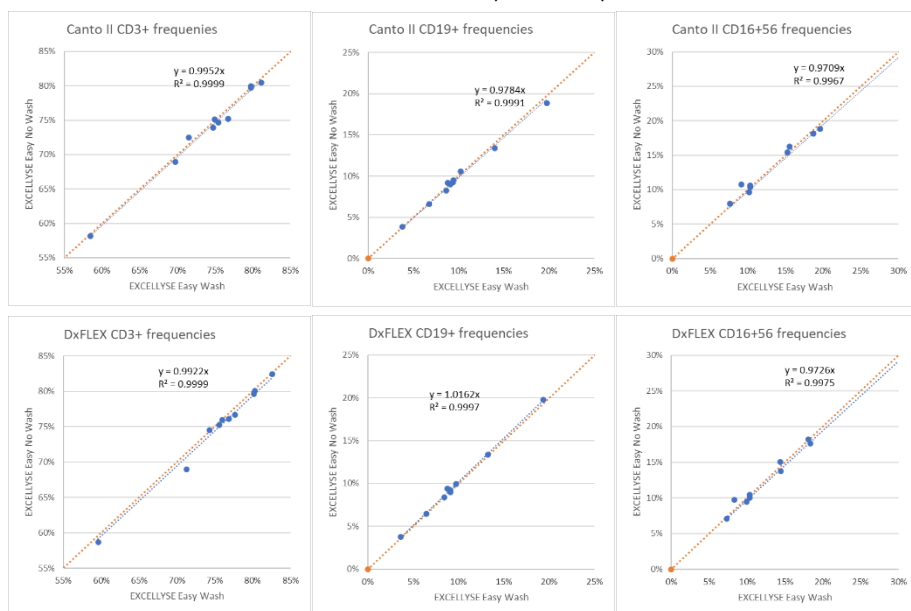
Tabulka 5 Variabilita počtu T-, B-, NK- lymfocytů mezi zkumavkami ve vzorcích zpracovaných pomocí EXCELLYSE Easy a analyzovaných pomocí cytometru Beckmann Coulter DxFLEX

DxFLEX	Frekvence lymfocytů (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Rozsah	CV (%)	Rozsah	CV (%)	Rozsah	CV (%)
No wash						
Heparin	75 - 82	0,6	7 - 18	2,3	6 - 13	3,2
EDTA	59 - 77	0,6	10 - 28	1,5	4 - 20	2,3
Wash						
Heparin	74 - 83	0,3	7 - 18	2,0	6 - 13	2,6
EDTA	60 - 78	0,5	8 - 30	1,7	4 - 19	2,4

Korelace mezi no wash a wash protokolem

Hexaplikáty vzorků antikoagulovaných EDTA (n=5) a heparinem (n=5) byly obarveny čtyřbarevným činidlem (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color) a zpracovány pomocí EXCELLYSE Easy Wash a No wash protokolu. Vzorky byly okamžitě analyzovány na cytometrech Beckmann Coulter DxFLEX a BD FACSCanto™ II.

Obrázek 5 Porovnání relativních počtů T-buněk, B-buněk a NK-buněk ve vzorcích zpracovaných pomocí EXCELLYSE Easy Wash protokolem versus No wash protokolem. Vzorky byly analyzovány na cytometrech BD FACSCanto™ II (horní řada) a Beckmann Coulter DxFLEX (dolní řada).



Reprodukovatelnost

N/A.

12. Vlastnosti klinické funkce

N/A. Činidlo je lyzační roztok. Neposkytuje výsledky, které souvisejí s konkrétním klinickým stavem nebo fyziologickým či patologickým procesem.

13. Očekávané hodnoty

N/A. Činidlo je lyzační roztok.

14. Omezení

Wash protokol vykazuje nižší výtěžnost WBC kvůli centrifugaci a odstraňování supernatantu.

Použití vakuové aspirace k odstranění supernatantu může způsobit nepředvídatelnou ztrátu buněk a kolísání výtěžnosti bílých krvinek.

15. Odkazy

N/A

16. Použití ochranných známek třetích stran

BD FACSCanto™ II a FlowJo™ jsou registrované ochranné známky firmy Becton, Dickinson a Company, Sysmex™ je registrovaná ochranná známka firmy Sysmex Corporation, VenturiOne® je registrovaná ochranná známka firmy Applied Cytometry, Infinicyt™ je registrovaná ochranná známka firmy Cytognos S.L..

17. Historie revizí

Verze 7, ED7066_IFU_v7

Změna objemu naředěného lyzačního roztoku v kroku číslo 3 v sekci 10. Postup (Lyse/no wash lyzační protokol) z 450 µl na 450-1000 µl. Uspořádání IFU změněno, texty přizpůsobeny tak, aby vyhovovaly nařízení o IVD. Přidány další podrobnosti o prostředku.

18. Výrobce

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

Kontaktní informace

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

19. Zplnomocněný zástupce

N/A

POZNÁMKA: Jakákoli vážná událost, která se vyskytla v souvislosti s prostředkem, musí být oznámena výrobci a místnímu příslušnému úřadu.