

exbio

EXCELLYSE I

100 ml | Nr kat. ED7065



Instrukcja użycia (PL)

Wersja: ED7065_IFU_v7_EN

Data wydania: 20.01.2023 r.

Symboly stosowane w oznakowaniu urządzeń

	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Przechowywać poza zasięgiem światła słonecznego
	Znak zgodności CE		Utrzymywać w suchości Chronić przed deszczem
	Producent		Zawartość
	Unikalny identyfikator urządzenia		Znak UKCA
	Zapoznaj się z instrukcją użycia		
	Numer katalogowy		
	Kod partii		
	Termin przydatności do użycia		
	Ograniczenie temperatury		

1. Przeznaczenie

EXCELLYSE I to roztwór lizujący przeznaczony do lizy czerwonych krwinek i utrwalania białych krwinek po barwieniu pełnej krwi obwodowej człowieka przeciwciałami sprzężonymi z fluorochromem przed analizą metodą cytometrii przepływowej.

Co jest wykrywane i/lub mierzone

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

Funkcja urządzenia

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym przeznaczonym do procedur diagnostycznych in vitro związanych z analizą cytometrii przepływowej.

Kontekst stanu fizjologicznego lub patologicznego

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

Rodzaj testu

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

Wymagany rodzaj próbki

Próbka pełnej krwi obwodowej człowieka poddanej działaniu środków przeciwzakrzepowych.

Populacja testowa

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

2. Użytkownik

Urządzenie jest przeznaczone wyłącznie do profesjonalnego użytku laboratoryjnego. Nie służy do badań przyłóżkowych ani do samodzielnych badań.

Wymagane kwalifikacje

Docelowy użytkownik powinien posiadać najbardziej aktualną wiedzę specjalistyczną w zakresie analizy cytometrii przepływowej komórek ludzkich oraz standardowych technik laboratoryjnych, w tym umiejętności pipetowania oraz bezpiecznego i właściwego obchodzenia się z próbkami pobranymi z organizmu ludzkiego.

Docelowy użytkownik musi przestrzegać normy EN ISO 15189 lub innych norm krajowych, jeśli takowe istnieją.

3. Zasada testu

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym powodującym hipotoniczną lizę czerwonych krwinek, jednocześnie zachowując białe krwinki do analizy cytometrii przepływowej.

4. Dostarczone odczynniki

Zawartość

Urządzenie EXCELLYSE I wystarcza na liżę 1000 próbek krwi i jest wyposażone w następujące odczynniki:

1 butelka (100 ml) zawierająca gotowy do użycia roztwór.

5. Materiały wymagane, niebędące w zestawie

Probówki okrągłodenne (12 x 75 mm)

Woda dejonizowana (do odczynników)

Buforowany fosforanem roztwór soli (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)

Odpowiednie przeciwciała pierwotne/wtórne znakowane barwnikiem fluorescencyjnym

6. Wymagany osprzęt

Pipeta automatyczna z końcówkami jednorazowymi (50–100 μl) do pipetowania próbek i odczynników

Dozownik lub pipeta do cieczy z jednorazowymi końcówkami (1,0–3,0 ml) do dozowania wody dejonizowanej

Mieszadło wirowe

Wirówka

Cytometr przepływowy

7. Przechowywanie i obsługa

Przechowywać w temperaturze 2–25°C.

Unikać długotrwałej ekspozycji na światło.



Nie zamrażać.

Patrz punkt 10. Procedura (Przygotowanie odczynników), aby uzyskać informacje na temat stabilności podczas użycia i okresu ważności po pierwszym otwarciu, a także warunków przechowywania i stabilności roztworów roboczych (jeśli dotyczy).

8. Ostrzeżenia, środki ostrożności i ograniczenia użytkowania

Klasyfikacja zagrożeń GHS

OSTRZEŻENIE: EXCELLYSE I (ED7065) zawiera formaldehyd (nr CAS 50-00-0) i metanol (nr CAS 67-56-1) w stężeniach sklasyfikowanych jako niebezpieczne.

Elementy etykiety	Hasło ostrzegawcze
	Niebezpieczeństwo
	
Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia	<p>H302 Działa szkodliwie po połknięciu.</p> <p>H315 Działa drażniąco na skórę.</p> <p>H317 Może powodować reakcję alergiczną skóry.</p> <p>H319 Działa drażniąco na oczy.</p> <p>H335 Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.</p> <p>H341 Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.</p> <p>H350 Może powodować raka.</p>
Zwroty wskazujące środki ostrożności	<p>P201 Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.</p> <p>P264 Dokładnie umyć ręce i dotknięte części ciała po użyciu.</p> <p>P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu.</p> <p>P301+P312 W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z lekarzem.</p> <p>P302+P352 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody i mydła.</p> <p>P305+P351+P338 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeśli są i można to łatwo usunąć. Nadal płukać.</p> <p>P308+P313 W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.</p> <p>P333+P313 W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.</p> <p>P362+P364 Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.</p>

Zapoznać się z kartą charakterystyki (SDS) dostępną na stronie produktu pod adresem www.exbio.cz, aby uzyskać pełne informacje na temat zagrożeń stwarzanych przez substancje chemiczne i mieszaniny zawarte w produkcie oraz na temat tego, jak należy się z nimi obchodzić i je utylizować.

Zagrożenie biologiczne

Ludzkie próbki biologiczne i próbki krwi oraz wszelkie materiały mające z nimi kontakt są zawsze uważane za materiały zakaźne.

Stosować środki ochrony osobistej i bezpieczeństwa, aby uniknąć kontaktu ze skórą, oczami i błonami śluzowymi.

Postępować zgodnie ze wszystkimi obowiązującymi przepisami prawa, regulacjami i procedurami dotyczącymi obchodzenia się z materiałami zakaźnymi i ich usuwania.

Oznaki pogorszenia jakości

Normalny wygląd dostarczonego odczynnika to klarowny płyn. Nie używać odczynnika w przypadku zauważenia jakiegokolwiek zmiany w jego wyglądzie, na przykład zmętnienia lub osadu.

Ograniczenie użytkowania

Nie stosować po upływie daty ważności podanej na etykiecie produktu.

9. Próbka

Do pobierania próbek należy używać krwi obwodowej pobranej z żyły do pojemnika na próbki sklasyfikowanego jako wyrób medyczny, z antykoagulantem EDTA lub heparyną.

10. Procedura

Przygotowanie dostarczonych odczynników

Przed użyciem należy doprowadzić odczynnik do temperatury pokojowej.

Po pierwszym otwarciu odczynnik zachowuje swoje właściwości użytkowe do daty ważności, jeśli jest przechowywany w określonych warunkach w oryginalnym pojemniku podstawowym.

Przygotowanie wymaganych, a nie zawartych w zestawie materiałów

Przed użyciem doprowadzić wodę dejonizowaną i 1X PBS do temperatury pokojowej.

Kontrola jakości

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

Protokół lizy/bez płukania

1. Dla każdej próbki oznaczyć okrągłodenną probówkę o wymiarach 12 × 75 mm odpowiednim identyfikatorem próbki.
2. Postępować zgodnie z instrukcją producenta przeciwciał dotyczącą barwienia krwi pełnej.

3. Dodać 100 µl roztworu lizującego na każde 50 µl krwi pełnej. Wymieszać zawartość probówki przy użyciu mieszadła wirowego.
4. Inkubować przez 2–5 minut w temperaturze pokojowej.
5. Do probówki należy dodać 1 ml wody dejonizowanej, dokładnie wymieszać i inkubować przez około 5-10 minut, aż mętny roztwór próbki krwi stanie się przejrzysty.
6. Przetworzoną próbkę należy natychmiast poddać analizie za pomocą cytometru przepływowego. Jeżeli barwiona próbka nie zostanie pobrana natychmiast, należy ją przechowywać w temperaturze 2-8°C w ciemności i wykonać analizę w ciągu 24 godzin.

Protokół lizy/ptukania

1. Dla każdej próbki oznaczyć okrągłodenną probówkę o wymiarach 12 × 75 mm odpowiednim identyfikatorem próbki.
2. Postępować zgodnie z instrukcją producenta przeciwciał dotyczącą barwienia krwi pełnej.
3. Dodać 100 µl roztworu lizującego na każde 50 µl krwi pełnej. Wymieszać zawartość probówki przy użyciu mieszadła wirowego.
4. Inkubować przez 2–5 minut w temperaturze pokojowej.
5. Do probówki należy dodać 3 ml wody dejonizowanej, dokładnie wymieszać i inkubować przez około 5-10 minut, aż mętny roztwór próbki krwi stanie się przejrzysty.
6. Wirować probówkę przez 5 minut z prędkością 300×g.
7. Zlać supernatant i zawiesić osad w 0,2–0,5 ml 1X PBS.
8. Przetworzoną próbkę należy natychmiast poddać analizie za pomocą cytometru przepływowego. Jeżeli barwiona próbka nie zostanie pobrana natychmiast, należy ją przechowywać w temperaturze 2-8°C w ciemności i wykonać analizę w ciągu 24 godzin.

Analiza metodą cytometrii przepływowej

Cytometr przepływowy wybrany do stosowania z urządzeniem EXCELLYSE I należy rutynowo kalibrować przy użyciu mikrokulek fluorescencyjnych, aby zapewnić stabilną czułość detektorów zgodnie z instrukcjami producenta cytometru.

W przypadku nieprawidłowej konserwacji cytometr przepływowy może dawać fałszywe wyniki.

Patrz specyfikacje cytometru producenta dotyczące laserów i detektorów fluorescencyjnych zgodnie z charakterystyką wzbudzenia i emisji fluorochromów w rozdziale 6. Wymagany osprzęt.

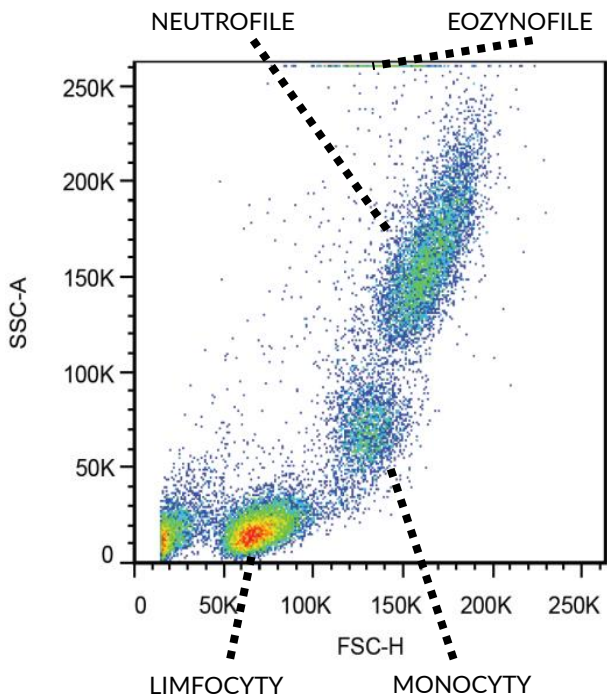
Ustawić napięcia na odpowiednich detektorach fluorescencyjnych przed analizą zabarwionej próbki. Napięcie na detektorze PMT powinno być ustawione na tyle wysoko, aby jak najmniej zdarzeń o barwieniu negatywnym zakłócało kanał 0 na osi fluorescencji. Ponadto napięcie detektora PMT nie powinno przekraczać wartości, przy których zdarzenia dodatnie są dociskane do prawej osi.

Kompensacja sygnałów fluorescencji między detektorami przed aktywacją danych lub po niej. Dane mogą być nieprawidłowo interpretowane, jeśli sygnały fluorescencyjne są niewłaściwie kompensowane lub jeśli bramki są ustawione niedokładnie.

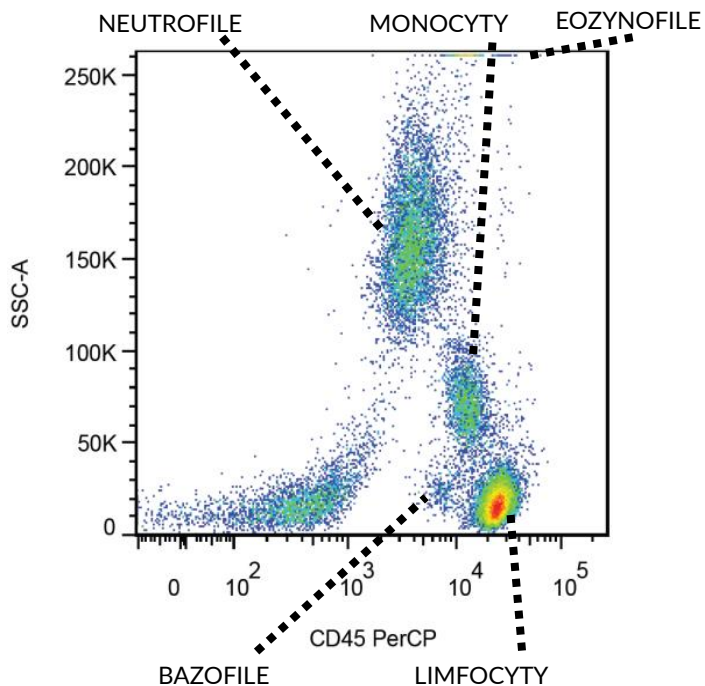
Do analizy danych pomiarowych można wykorzystać oprogramowanie cytometryczne opracowane przez producenta lub oprogramowanie przeznaczone do analizy danych cytometrycznych offline (na przykład FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Dane reprezentatywne

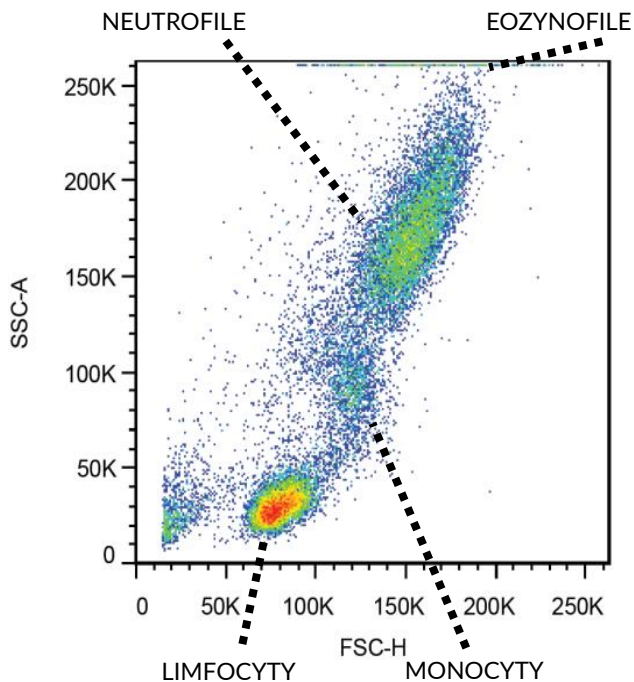
Rysunek 1 Dwuwymiarowy wykres punktowy gęstości przedstawiający skupiska leukocytów krwi obwodowej w próbce poddanej lizie/bez płukania w teście EXCELLYSE I, analizowanej na cytometrze BD FACSCanto™ II.



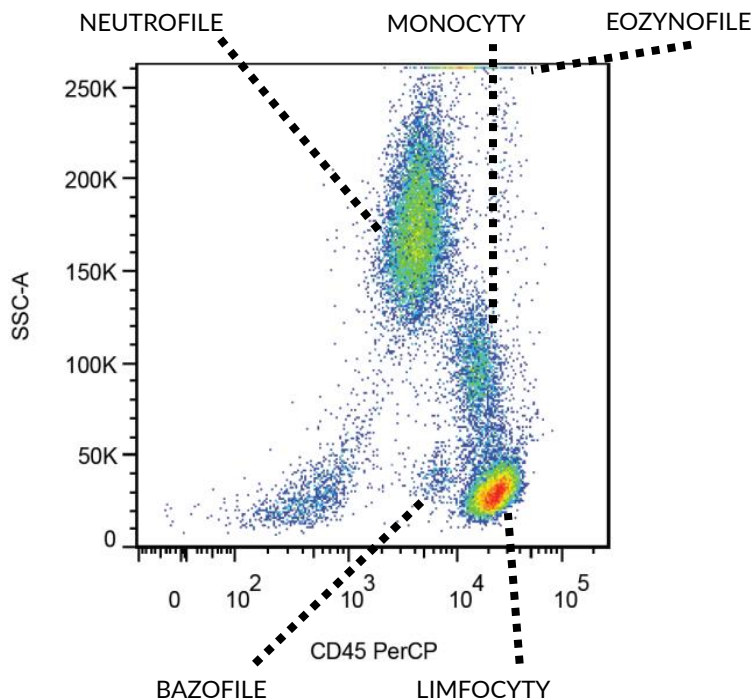
Rysunek 2 Profil barwienia pełnej krwi barwionej przeciwciałem anti-CD45 znakowanym PerCP, poddanej obróbce zgodnie z protokołem lizy/bez płukania i analizowanej na cytometrze BD FACSCanto™ II.



Rysunek 3 Dwuwymiarowy wykres gęstości punktowej przedstawiający skupiska leukocytów krwi obwodowej w próbce poddanej lizie/płukaniu preparatem EXCELLYSE I, analizowanej na cytometrze BD FACSCanto™ II.



Rysunek 4 Profil barwienia pełnej krwi barwionej przeciwciałem anti-CD45 znakowanym PerCP, poddanym obróbce zgodnie z protokołem lizy/płukania i analizowanym na cytometrze BD FACSCanto™ II.



Obliczanie i interpretacja wyników analiz

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

11. Wydajność analityczna

Wydajność urządzenia charakteryzowano na podstawie odzysku białych krwinek, stabilności próbki w czasie po jej przetworzeniu oraz zmienności stężenia limfocytów T, B, NK między próbkami-oznaczonego i zliczonego przy użyciu urządzenia CE ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color.

Odzyskiwanie białych krwinek

Próbki poddane działaniu EDTA (n=13) i heparyny (n=5) jako środka przeciwzakrzepowego poddano obróbce przy użyciu programu EXCELLYSE I i przeanalizowano w trybie wstępnego rozcieńczenia w automatycznym analizatorze hematologicznym SYSMEX XN1000. Odzysk określono jako stosunek liczby białych krwinek w przetworzonej próbce do liczby białych krwinek w pełnej krwi przed lizą.

Równolegle analizowano próbki poddane pseudoprzetworzeniu (nielizowane, niewirowane, rozcieńczone PBS).

Tabela 1 Odzyskiwanie WBC w próbkach krwi przetworzonych przez EXCELLYSE I

	Odzyskiwanie WBC	
	Średnia (%)	Odchylenie standardowe (%)
Bez płukania		
EDTA	96	6
Heparyna	94	9
Pseudoprzetworzone	95	2
Płukanie		
EDTA	87	5
Heparyna	78	6
Pseudoprzetworzone	97	2

Stabilność liczby białych krwinek w czasie po przetworzeniu próbki

Próbki poddano działaniu EDTA (n=9) i heparyny (n=5) jako środka przeciwzakrzepowego i poddano obróbce przy użyciu EXCELLYSE I. Liczbę białych krwinek analizowano natychmiast w trybie wstępnego rozcieńczenia w automatycznym analizatorze hematologicznym SYSMEX XN1000 i ponownie po 24 godzinach przechowywania (przez noc) w lodówce. Zmiana jest podawana w procentach (%).

Tabela 2 Zmiana liczby białych krwinek pomiędzy próbkami poddanymi obróbce w urządzeniu EXCELLYSE I analizowanymi bezpośrednio i po 24 godzinach przechowywania

	Zmiana względna liczby białych krwinek	
	Średnia (%)	Odchylenie standardowe (%)
Bez płukania		
EDTA	-3	4
Heparyna	3	8
Płukanie		
EDTA	1	2
Heparyna	-1	3

Stabilność liczby limfocytów T, B, NK w czasie po przetworzeniu próbki

Próbkę z antykoagulantem EDTA (n=1) i heparyną (n=1) barwiono w szóstkach powtórzeń przy użyciu urządzenia CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color i poddano obróbce w EXCELLYSE I. Analizy cytometrii przepływowej procentowej zawartości limfocytów T, B, NK przeprowadzono natychmiast w cytometrze przepływowym BD FACSCanto™ II, a następnie ponownie po 24 godzinach przechowywania (przez noc) w lodówce. Liczba i współczynnik CV (%) są podawane dla obu pomiarów.

Tabela 3 Procenty limfocytów T, B i NK w próbkach poddanych obróbce w urządzeniu EXCELLYSE I analizowanych bezpośrednio po przechowaniu oraz po 24 godzinach przechowywania

	Częstotliwość występowania limfocytów (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Średnia	Współczynnik CV (%)	Średnia	Współczynnik CV (%)	Średnia	Współczynnik CV (%)
Bez płukania						
Natychmiastowa analiza z zastosowaniem heparyny	75,1	0,3	13,5	1,4	8,3	1,5
Z heparyną po 24 godzinach	76,4	0,4	12,9	1,4	8,5	1,5
Natychmiastowa analiza z zastosowaniem EDTA	85,8	0,3	8,2	2,1	3,3	2,3
Z EDTA po 24 godzinach	86,3	0,6	8,1	3,7	3,3	3,9
Płukanie						
Natychmiastowa analiza z zastosowaniem heparyny	77,1	0,3	13,6	1,3	8,4	1,8
Z heparyną po 24 godzinach	78,0	1,2	13,3	4,2	8,1	5,5
Natychmiastowa analiza z zastosowaniem EDTA	86,7	0,4	9,1	3,1	2,5	3,2
Z EDTA po 24 godzinach	87,7	0,3	8,3	2,5	2,5	5,7

Powtarzalność (zmienność między próbkami)

Powtarzalność mierzono jako zmienność między próbkami względnej liczby limfocytów T, B i NK. Liczbę podgrup limfocytów określono poprzez barwienie krwi pełnej odczynnikiem 4-kolorowym (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color). Szóstki próbek z dodatkiem EDTA (n=5) i heparyny (n=5) poddano obróbce z zastosowaniem protokołu z płukaniem EXCELLYSE I i protokołu bez płukania, a następnie analizowano na cytometrach Beckmann Coulter DxFLEX i BD FACSCanto™ II.

Tabela 4 Zmienność liczby limfocytów T, B i NK między próbkami w próbkach przetworzonych za pomocą EXCELLYSE I i analizowanych na cytometrze BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	Częstotliwość występowania limfocytów (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Zakres	Współczynnik CV (%)	Zakres	Współczynnik CV (%)	Zakres	Współczynnik CV (%)
Bez płukania						
Heparyna	71-81	0,4	8-19	2,3	7-14	2,0
EDTA	59-75	0,7	11-29	2,0	4-19	2,3
Płukanie						
Heparyna	72-81	0,5	8-20	2,0	7-14	2,2
EDTA	60-77	0,6	9-29	2,3	4-19	3,1

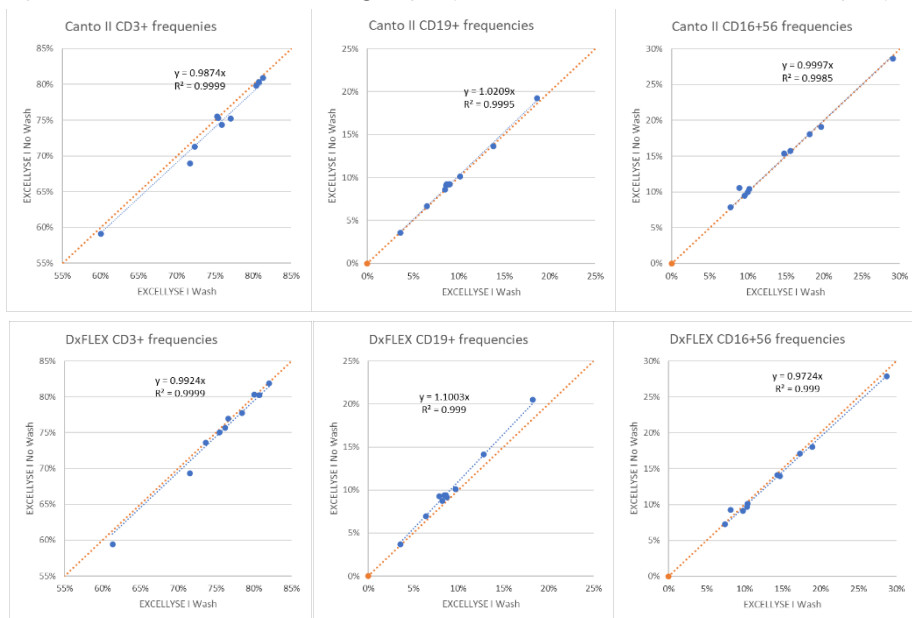
Tabela 5 Zmienność liczby limfocytów T, B i NK między próbkami w próbkach przetworzonych za pomocą EXCELLYSE I i analizowanych na cytometrze Beckmann Coulter DxFLEX

DxFLEX	Częstotliwość występowania limfocytów (%)					
	CD3		CD16+56		CD19	
	Zakres	Współczynnik CV (%)	Zakres	Współczynnik CV (%)	Zakres	Współczynnik CV (%)
Bez płukania						
Heparyna	74-82	0,5	7-18	3,5	7-14	3,1
EDTA	59-78	0,6	9-28	2,1	4-21	3,6
Płukanie						
Heparyna	74-82	0,4	7-19	1,6	6-13	2,6
EDTA	61-78	0,6	8-29	2,1	4-18	2,2

Korelacja między protokołami bez płukania i z płukaniem

Szóstki próbek z dodatkiem EDTA (n=5) i heparyny (n=5) barwiono odczynnikiem 4-kolorowym (CE IVD ED7735 KOMBITEST B/NK Cell 4-color) opracowanym przy użyciu protokołu z płukaniem i bez płukania EXCELLYSE I. Próbkę poddano natychmiastowej analizie na cytometrach Beckmann Coulter DxFLEX i BD FACSCanto™ II.

Rysunek 5 Porównanie względnej liczby komórek T, komórek B i komórek NK w próbkach poddanych płukaniu i niepoddanych płukaniu w EXCELLYSE I. Próbkę analizowano w cytometrach BD FACSCanto™ II (górny rząd) i Beckmann Coulter DxFLEx (dolny rząd).



Odtwarzalność

Nie dot.

12. Skuteczność kliniczna

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym. Nie daje wyników, które można powiązać z konkretnym stanem klinicznym lub procesem fizjologicznym czy patologicznym.

13. Oczekiwane wartości

Nie dot. Odczynnik jest roztworem lizującym.

14. Ograniczenia

Protokół z płukaniem wykazuje niższy odzysk WBC ze względu na wirowanie i dekantację supernatantu.

Użycie odsysania próżniowego do usuwania supernatantu może spowodować nieprzewidywalną utratę komórek i wahania w odzyskiwaniu białych krwinek.

15. Bibliografia

Nie dot.

16. Użycie znaków towarowych stron trzecich

BD FACSCanto™ II i FlowJo™ są zarejestrowanymi znakami towarowymi firmy Becton, Dickinson and Company, Sysmex™ jest zarejestrowanym znakiem towarowym Sysmex Corporation, VenturiOne® jest zarejestrowanym znakiem towarowym Applied Cytometry, Infinicyt™ jest zarejestrowanym znakiem towarowym Cytognos S.L..

17. Historia zmian

Wersja 7, ED7065_IFU_v7

Zmieniono układ instrukcji użytkowania, dostosowano teksty do przepisów IVD. Dodano więcej szczegółów dotyczących wydajności urządzenia.

18. Producent

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
25250 Vestec
Republika Czeska

Dane kontaktowe

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

19. Upoważnieni przedstawiciele

N/A

UWAGA: O każdym poważnym incydencie związanym z urządzeniem należy powiadomić producenta oraz właściwy organ lokalny.