

# exbio

## EXCELLYSE I

100 ml | Kat. č. ED7065



### Návod k použití (CS)

Verze: ED7065\_IFU\_v7\_CS

Datum vydání: 20-01-2023

Symbole použité k označení prostředku

|  |  |  |                                |
|--|--|--|--------------------------------|
|  | Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i> |  | Chránit před slunečním zářením |
|  | Označení shody CE                                    |  | Chránit před vlhkem            |
|  | Výrobce  |  | Obsah                          |
|  | Jedinečná identifikace prostředku (UDI)              |  | Označení shody UKCA            |
|  | Čtěte návod k použití                                |  |                                |
|  | Katalogové číslo                                     |  |                                |
|  | Kód dávky  |  |                                |
|  | Použit do data                                       |  |                                |
|  | Omezení teploty                                      |  |                                |

## 1. Určený účel prostředku

EXCELLYSE I 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 I vystačí k lýži 1000 krevních vzorků a je dodáván ve formátu:

1 láhev (100 ml) obsahující roztok připravený k použití.

## 5. Nutné, ale neposkytované materiály

Testovací zkumavky s kulatým dnem (12 x 75 mm)

Deionizovaná voda

Fosfátový pufr (1X PBS), pH 7,4 (0,2 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 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  $\mu\text{l}$  – 100  $\mu\text{l}$ ) pro pipetování vzorků a činidel

Dávkovač kapalin nebo pipeta s jednorázovými špičkami (1,0 ml – 3,0 ml) pro dávkování deionizované vody

Vortex

Centrifuga

Průtokový cytometr

## 7. Skladování a manipulace

Skladujte při teplotě 2-25 °C.

Chraňte před přímým slunečním světlem.



Nezamrazujte.

Informace o stabilitě po prvním otevření a době použitelnosti po prvním otevření, spolu s podmínkami skladování a stabilitou pracovních roztoků (v případě potřeby) naleznete v části 10 Postup (Příprava reagentů).

## 8. Výstrahy, opatření a omezení

### GHS klasifikace nebezpečnosti

**VÝSTRAHA:** EXCELLYSE I (ED7065) obsahuje formaldehyd (č. 50-00-0) a metanol (č. 67-56-1) v koncentracích klasifikovaných jako nebezpečné.

| Prvky označení  | Signální slovo  |
|---|---|
|  | <b>Nebezpečí</b>  |
|  |   |
| <b>H-věty</b>   | <p>H302 Zdraví škodlivý při požití.</p> <p>H315 Dráždí kůži.</p> <p>H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.</p> <p>H319 Způsobuje vážné podráždění očí.</p> <p>H335 Může způsobit podráždění dýchacích cest.</p> <p>H341 Podezření na genetické poškození.</p> <p>H350 Může vyvolat rakovinu.</p>  |
| <b>P-věty</b>   | <p>P201 Před použitím si obstarejte speciální instrukce.</p> <p>P264 Po manipulaci důkladně omyjte ruce a zasažené části těla.</p> <p>P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle.</p> <p>P301+P312 PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte lékaře.</p> <p>P302+P352 PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.</p> <p>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.</p> <p>P308+P313 PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.</p> <p>P333+P313 Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.</p> <p>P362+P364 Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.</p> |

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](http://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 reagensie 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 reagensí**

Před použitím vytemperujte činidlo na pokojovou teplotu.

Po prvním otevření si reagensie zachovává své funkční charakteristiky až do data expirace, pokud je skladována za uvedených podmínek v originálním primárním obalu.

### **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 100 µl lyzačního roztoku na 50 µl plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 2-5 minut při pokojové teplotě.
5. Pipetujte 1 ml deionizované vody do zkumavky, dobře promíchejte a inkubujte po dobu 5-10 minut, dokud nedojde k vyčerení krevního vzorku.
6. 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 100  $\mu$ l lyzačního roztoku na 50  $\mu$ l plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 2-5 minut při pokojové teplotě.
5. Pipetujte 3 ml deionizované vody do zkumavky, dobře promíchejte a inkubujte po dobu 5-10 minut, dokud nedojde k vyčření krevního vzorku.
6. Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
7. Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment v 0,2 – 0,5 ml 1X PBS.
8. 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 I 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.

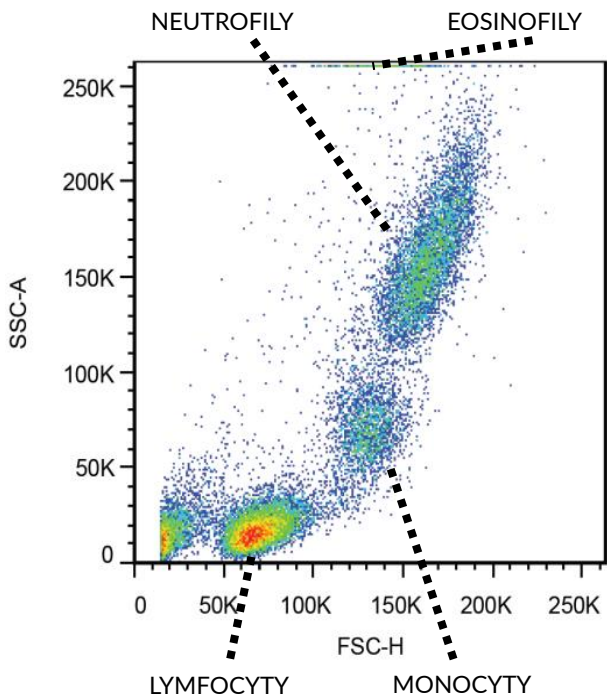
Před analýzou obarveného vzorku nastavte napětí na požadovaných fluorescenčních detektorech. Napětí na fotonásobiči by mělo být nastaveno dostatečně vysoko, aby minimum negativních událostí bylo zaznamenáno v nultém kanálu na ose fluorescence. Napětí na fotonásobiči by také nemělo překročit hodnoty,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

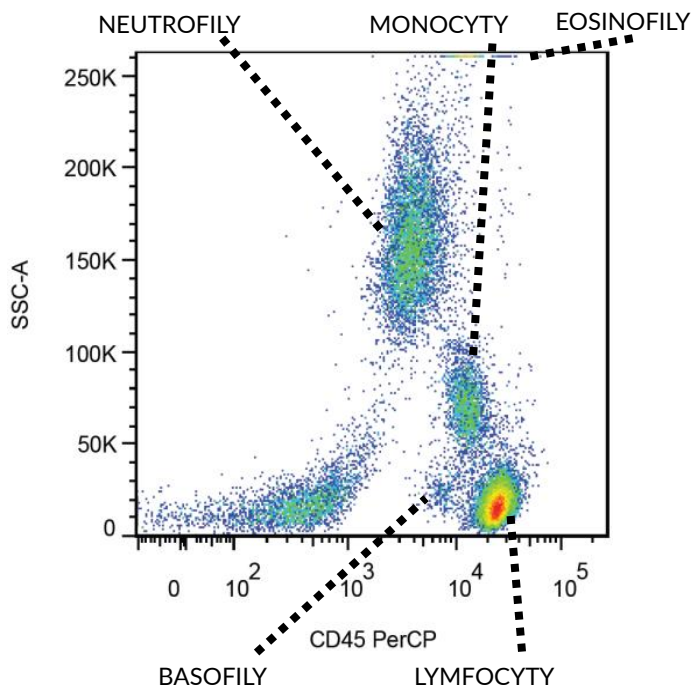
Pro analýzu naměřených dat je možné použít software vyvinutý výrobcem cytometru nebo software určený pro offline analýzu cytometrických dat (např. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

## Reprezentativní data

**Obrázek 1** Dvourozměrný graf se zvýrazněním hustoty událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE I protokolem Lyse/No wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.

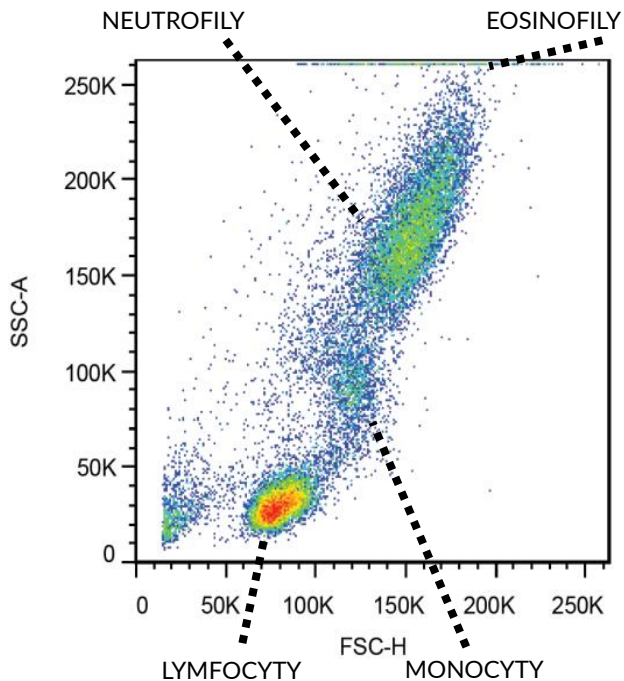


**Obrázek 2** Profil značení plné krve obarvené pomocí protilátky anti-CD45 PerCP, zpracované podle protokolu Lyse/No wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.

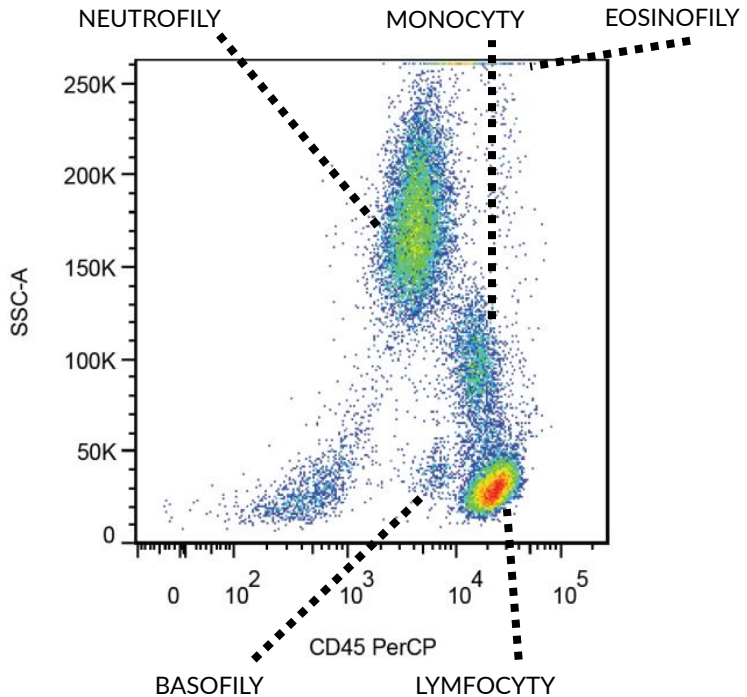




**Obrázek 3** Dvourozměrný graf se zvýrazněním hustoty událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE I protokolem Lyse/Wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.



**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 I 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 lýzou.

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

**Tabulka 1** Výtežnost WBC ze vzorků krve zpracovaných EXCELLYSE I

|                | Výtežnost WBC |        |
|----------------|---------------|--------|
|                | Průměr (%)    | SD (%) |
| <b>No wash</b> |               |        |
| EDTA           | 96            | 6      |
| Heparin        | 94            | 9      |
| Kontrolní      | 95            | 2      |
| <b>Wash</b>    |               |        |
| EDTA           | 87            | 5      |
| Heparin        | 78            | 6      |
| 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 I. 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 I analyzovaných okamžitě a po 24 hodinách skladování

|                | Relativní změna počtu WBC |        |
|----------------|---------------------------|--------|
|                | Průměr (%)                | SD (%) |
| <b>No wash</b> |                           |        |
| EDTA           | -3                        | 4      |
| Heparin        | 3                         | 8      |
| <b>Wash</b>    |                           |        |
| EDTA           | 1                         | 2      |
| Heparin        | -1                        | 3      |

### 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 I. 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 I, analyzovaných okamžitě a po 24 hodinách skladování

|                          | Frekvence lymfocytů (%) |        |         |        |        |        |
|--------------------------|-------------------------|--------|---------|--------|--------|--------|
|                          | CD3                     |        | CD16+56 |        | CD19   |        |
|                          | Průměr                  | CV (%) | Průměr  | CV (%) | Průměr | CV (%) |
| <b>No wash</b>           |                         |        |         |        |        |        |
| Heparin okamžitá analýza | 75,1                    | 0,3    | 13,5    | 1,4    | 8,3    | 1,5    |
| Heparin po 24 hodinách   | 76,4                    | 0,4    | 12,9    | 1,4    | 8,5    | 1,5    |
| EDTA okamžitá analýza    | 85,8                    | 0,3    | 8,2     | 2,1    | 3,3    | 2,3    |
| EDTA po 24 hodinách      | 86,3                    | 0,6    | 8,1     | 3,7    | 3,3    | 3,9    |
| <b>Wash</b>              |                         |        |         |        |        |        |
| Heparin okamžitá analýza | 77,1                    | 0,3    | 13,6    | 1,3    | 8,4    | 1,8    |
| Heparin po 24 hodinách   | 78,0                    | 1,2    | 13,3    | 4,2    | 8,1    | 5,5    |
| EDTA okamžitá analýza    | 86,7                    | 0,4    | 9,1     | 3,1    | 2,5    | 3,2    |
| EDTA po 24 hodinách      | 87,7                    | 0,3    | 8,3     | 2,5    | 2,5    | 5,7    |

## 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 I Wash/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 I a analyzovaných pomocí cytometru BD FACSCanto™ II

| BD<br>FACSCanto™ II | Frekvence lymfocytů (%) |        |         |        |        |        |
|---------------------|-------------------------|--------|---------|--------|--------|--------|
|                     | CD3                     |        | CD16+56 |        | CD19   |        |
|                     | Rozsah                  | CV (%) | Rozsah  | CV (%) | Rozsah | CV (%) |
| <b>No wash</b>      |                         |        |         |        |        |        |
| Heparin             | 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    |
| <b>Wash</b>         |                         |        |         |        |        |        |
| heparin             | 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    |

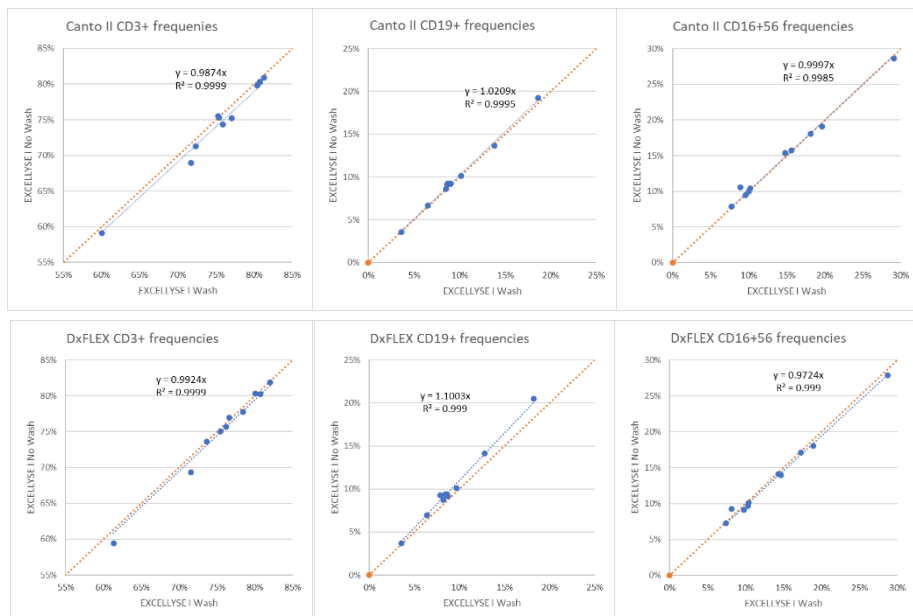
**Tabulka 5** Variabilita počtu T-, B-, NK- lymfocytů mezi zkumavkami ve vzorcích zpracovaných pomocí EXCELLYSE I a analyzovaných pomocí cytometru Beckmann Coulter DxFLEX

| DxFLEX         | Frekvence lymfocytů (%) |        |         |        |        |        |
|----------------|-------------------------|--------|---------|--------|--------|--------|
|                | CD3                     |        | CD16+56 |        | CD19   |        |
|                | Rozsah                  | CV (%) | Rozsah  | CV (%) | Rozsah | CV (%) |
| <b>No wash</b> |                         |        |         |        |        |        |
| Heparin        | 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    |
| <b>Wash</b>    |                         |        |         |        |        |        |
| Heparin        | 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    |

## Korelace mezi 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 I Wash/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 I 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, ED7065\_IFU\_v7

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 výrobcí a místnímu příslušnému úřadu.