



# Instrukcja użycia

Identyfikacja odczynnika IVD

**CyFlow™ CD1a APC**

**REF**

**BH187799**

**IVD**

**CE**

Karta charakterystyki tego produktu jest dostępna pod adresem [www.sysmex-partec.com/services](http://www.sysmex-partec.com/services).

## Spis treści

1	Specyfikacja.....	3
2	Przeznaczenie.....	3
3	Zasada metody testowej.....	3
4	Przechowywanie i okres ważności po pierwszym otwarciu .....	3
5	Komponenty .....	4
6	Oznaki pogorszenia jakości .....	4
7	Środki ostrożności i ostrzeżenia .....	4
8	Dodatkowe wymagane wyposażenie .....	4
9	Przygotowanie odczynników .....	5
10	Utylizacja.....	5
11	Pobieranie, obróbka i przechowywanie próbek pierwotnych .....	5
12	Procedura testowa .....	5
12.1	Barwienie .....	5
12.2	Analiza próbki.....	6
12.2.1	Wewnętrzna kontrola jakości .....	6
12.2.2	Cytometria przepływowa .....	6
12.3	Gromadzenie i analiza danych.....	6
13	Interpretacja wyników.....	6
14	Procedura kontrolna .....	6
15	Charakterystyka wydajności testu .....	7
15.1	Swoistość analityczna .....	7
15.2	Czułość analityczna .....	7
15.3	Dane reprezentatywne .....	7
16	Ograniczenia.....	7
17	Piśmiennictwo .....	8
18	Kontakt .....	8
19	Numer wersji IFU i data wydania .....	8
20	Symbolika .....	9

## 1 Specyfikacja

Swoistość	ludzki CD1a
Fluorochrom	APC
Klon	SK9
Gospodarz / Izotyp	Mysz / IgG2b
Zawartość	100 testów, 1 mL
Stosowanie	10 µL na test

## 2 Przeznaczenie

**IVD**

Do stosowania w diagnostyce in vitro.

Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD1a APC jest przeznaczone do jakościowej diagnostyki in vitro w celu identyfikacji komórek przedstawiających ludzki antygen CD1a w antykoagulowanej krwi za pomocą przepływowej analizy cytometrycznej. Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD1a APC jest przeznaczone do stosowania przez przeszkolonych pracowników laboratoriów i służby zdrowia w szpitalach i laboratoriach klinicznych, zarówno do ręcznego, jak i automatycznego przygotowywania próbek. Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD1a APC może być stosowane do wspomagania diagnozy i klasyfikacji chorób u pacjentów przez laboratoria kliniczne.

## 3 Zasada metody testowej

Metoda ta opiera się na swoistym wiązaniu przeciwciała monoklonalnego z antygenem docelowym ulegającym ekspresji na powierzchni komórki lub wewnątrzkomórkowym przedziale komórkowym. Swoiste przeciwciało monoklonalne związane z antygenem jest sprzężone z fluorochromem, który jest wzbudzany przez odpowiednią wiązkę laserową w odpowiednio wyposażonym cytometrze przepływowym. Późniejsza emisja światła z danego fluorochromu jest zbierana i analizowana przez cytometr przepływowy w dedykowanym detektorze fluorescencyjnym. Różnice w natężeniu fluorescencji komórkowej umożliwiają rozdzielenie subpopulacji komórek na podstawie ekspresji analizowanego antygenu.

Barwienie komórek z ekspresją docelowego antygenu uzyskuje się poprzez inkubację zawiesiny komórek odczynnikiem zawierającym przeciwciało monoklonalne, a następnie, w stosownych przypadkach, poprzez liżę krwinek czerwonych i płukanie komórek w celu usunięcia niezwiązanego odczynnika zawierającego przeciwciało monoklonalne. Zabarwione komórki poddaje się analizie w cytometrze przepływowym.

## 4 Przechowywanie i okres ważności po pierwszym otwarciu

### 1. Przechowywanie:

Odczynnik należy przechowywać w temperaturze 2-8°C w ciemności. Nie zamrażać ani nie wystawiać na działanie światła. Nie używać po upływie terminu ważności podanego na etykiecie.

### 2. Okres ważności po pierwszym otwarciu:

Po otwarciu unikać narażenia odczynnika na bezpośrednie działanie światła lub mrozu. Przechowywać w temperaturze 2-8°C w ciemności. Zamknąć szczelnie pokrywę, aby uniknąć rozlania się płynów i utrzymać fiolkę wolną od wilgoci.

Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD1a APC zachowuje właściwości użytkowe po wprowadzeniu do użytku przez co najmniej 545 dni.

## 5 Komponenty

Mysie przeciwciała monoklonalne (klon SK9, izotyp IgG2b) skierowane przeciwko ludzkiemu antygenowi CD1a, znakowane fluorochromem APC.

Odczynnik jest dostarczany w stabilizującym roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS), pH  $\approx$  7,4, zawierającym 0,09% (wag./obj.) azydku sodu i 0,2% (wag./obj.) BSA.

## 6 Oznaki pogorszenia jakości

Unikać zanieczyszczenia odczynników. W przypadku pogorszenia jakości komponentów, postrzeganego jako widoczne wytrącenie lub przebarwienia odczynnika, lub jeśli uzyskane dane wskazują na jakiegokolwiek zmiany wydajności, należy skontaktować się z Działem Obsługi Technicznej lokalnego przedstawiciela Sysmex.

Jakiegokolwiek problem, który wystąpił w związku z produktem, użytkownik powinien zgłosić producentowi. W przypadku poważnych incydentów prosimy o kontakt z producentem oraz właściwymi władzami.

## 7 Środki ostrożności i ostrzeżenia

Odczynnik zawiera azcydek sodu ( $\text{NaN}_3$ ), który jest bardzo toksyczny w czystej postaci. Stężenie w odczynniku nie jest jednak niebezpieczne. Podczas utylizacji odczynnika należy przestrzegać obowiązujących lokalnych przepisów.

Ważne informacje dotyczące bezpiecznego obchodzenia się, transportu i usuwania tego produktu zawarte są w Karcie Charakterystyki.

Zawsze należy przestrzegać krajowych i międzynarodowych wytycznych i norm regulacyjnych dotyczących środków ochrony indywidualnej.

## 8 Dodatkowe wymagane wyposażenie

Wymagane instrumenty: Cytometr przepływowy wyposażony w odpowiednie źródło światła, filtry i detektory w celu wykrycia rozproszenia światła i odpowiedniej fluorescencji, oraz wyposażony w odpowiednie oprogramowanie analityczne do gromadzenia i analizy danych.

Wytrząsarka typu Vortex

Wirówka (z systemem wirników przeznaczonych do max. 500 g)

Opcja: system do przygotowywania próbek (np. Sysmex Sample Preparation System PS-10)

Potrzebne materiały:

Materiały potrzebne do pobrania krwi pełnej

Jednorazowe probówki do barwienia próbek krwi

Pipety z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 1000  $\mu\text{l}$

Odpowiednie środki ochrony indywidualnej

Dostępny w handlu roztwór do lizy, na przykład: CyLyse™ LV, nr zam.: BL215283 (CE IVD)

Roztwór soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS), pH 7,4

Roztwór utrwalający, na przykład: 2% roztwór paraformaldehydu w PBS

## 9 Przygotowanie odczynników

Odczynnik jest gotowy do użycia. Zawartość fiołki (1 ml) wystarcza na 100 testów.

## 10 Utylizacja

Wszystkie materiały jednorazowego użytku, które miały kontakt z materiałami niebezpiecznymi biologicznie, muszą zostać odkażone i usunięte zgodnie z lokalnymi przepisami ustawowymi i wykonawczymi. Natychmiast oczyścić i zdezynfekować zanieczyszczone powierzchnie, zastosować odpowiednie procedury odkażania. Zawsze należy usuwać próbki krwi, testy i płyny pomocnicze po upływie maksymalnego czasu przechowywania.

## 11 Pobieranie, obróbka i przechowywanie próbek pierwotnych

### Ostrzeżenie

*Wszystkie próbki biologiczne i materiały, które mają z nimi kontakt, należy traktować jako stwarzające zagrożenie biologicznie. Próbki należy traktować jako potencjalnie zakaźne i usuwać zgodnie z przepisami federalnymi, stanowymi i lokalnymi.*

Krew pełną należy pobierać do sterylnej probówki z antykoagulantem. Probówkę z próbką krwi należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18-28 °C). Delikatnie wymieszać przed użyciem. W celu uzyskania najlepszych wyników zaleca się stosowanie świeżej próbki krwi. Czas między pobraniem a analizą nie powinien być dłuższy niż 24 godziny.

## 12 Procedura testowa

### 12.1 Barwienie

1. Dodać 10 µl odczynnika CyFlow™ zawierającego przeciwciała monoklonalne do probówki.
2. Dodać 100 µl próbki krwi do probówki i delikatnie wymieszać wytrząsarką Vortex.
3. Inkubować przez 20-30 minut w temperaturze pokojowej (18-28 °C) w ciemności.
4. Przeprowadzić lizę krwinek czerwonych. Przestrzegać instrukcji podanej przez producenta roztworu do lizy. Na przykład w przypadku używania CyLyse™ LV należy dodać 2 ml rozcieńczonego 10X roztworu do lizy CyLyse™ LV na 100 µl krwi pełnej i delikatnie wymieszać wytrząsarką Vortex.
5. Inkubować przez 10-15 minut w temperaturze pokojowej (18-28 °C) w ciemności.
6. Odwirowywać probówki przez 5 minut przy 300 g i usunąć supernatant przez dekantację.
7. Zawiesić ponownie osad komórkowy przy użyciu 2 ml PBS.
8. Odwirowywać probówki przez 5 minut przy 300 g i usunąć supernatant przez dekantację.
9. W celu późniejszej analizy w cytometrze przepływowym ponownie zawiesić osad komórek w odpowiedniej objętości PBS dostosowanej do cytometru przepływowego.
10. W celu późniejszej analizy zawiesza się komórki w roztworze utrwalającym. Zaleca się stosowanie 2% roztworu paraformaldehydu w PBS. Próbkę należy przechowywać w temperaturze 2-8 °C, bez dostępu światła i analizować w ciągu 24 godzin.
11. Wymieszać próbki ostrożnie i dokładnie wytrząsarką Vortex, aby zmniejszyć agregację komórek przed analizą metodą cytometrii przepływowej.

## 12.2 Analiza próbki

### 12.2.1 Wewnętrzna kontrola jakości

W celu uzyskania precyzyjnych i powtarzalnych pomiarów zaleca się centrowanie laserowe i regularną kalibrację instrumentów z wykorzystaniem cząsteczek fluorescencyjnych. Każde laboratorium powinno przeprowadzać kontrolę jakości instrumentu zgodnie z instrukcją podaną przez dostawcę instrumentu.

### 12.2.2 Cytometria przepływowa

Próbki należy analizować przy użyciu cytometru przepływowego o odpowiedniej konfiguracji. W celu uniknięcia nieprawidłowych wyników, przed analizą próbki należy zminimalizować zanieczyszczenia i upewnić się, że interesujące populacje są starannie wyznaczone.

## 12.3 Gromadzenie i analiza danych

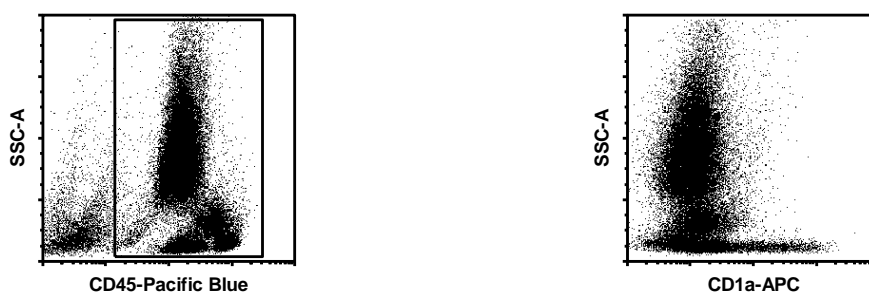
Dane należy zgromadzić i przeanalizować przy użyciu cytometru przepływowego o odpowiedniej konfiguracji.

Należy zawsze mierzyć parametry rozproszenia światła komórkowego: rozproszenie w osi wiązki (FSC) i rozproszenie boczne (SSC).

Należy zapoznać się z podaną przez producenta specyfikacją cytometru dotyczącą detektorów fluorescencyjnych, w których gromadzone są zdarzenia emisji fluorescencji przeciwciał barwionych CD1a+ zgodnie z charakterystyką emisji fluorochromu.

Widma emisji niektórych fluorochromów nakładają się na siebie. Kompensacja mierzonych danych może być wymagana przed analizą.

Dane reprezentatywne CyFlow™ CD1a APC wykonane dla szpik kostny i bramkowane na Komórkach CD45 + od pacjenta są przedstawione na ryc. 1.



Ryc. 1: Dane reprezentatywne CyFlow™ CD1a APC, przeanalizowane cytometrem przepływowym wyposażonym w laser czerwony (wzbudzenie laserowe 638 nm).

## 13 Interpretacja wyników

W niektórych chorobach spodziewana jest nieprawidłowa liczba komórek z ekspresją tego antygenu lub nieprawidłowe poziomy ekspresji antygenu. Do przeprowadzenia właściwej analizy ważne jest zrozumienie wzorca prawidłowej ekspresji dla badanego antygenu i jego związku z ekspresją innych istotnych antygenów.

## 14 Procedura kontrolna

Firma Sysmex Partec GmbH zaleca codzienne wykonywanie analizy próbki kontrolnej krwi od osoby dorosłej (zdrowego dawcy) lub dostępnej w handlu kontroli krwi pełnej w celu optymalizacji ustawień cytometru przepływowego oraz jako kontrolę jakości systemu.

## 15 Charakterystyka wydajności testu

### 15.1 Swoistość analityczna

Przeciwciało monoklonalne SK9 zostało przypisane podczas International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens do ludzkiego antygenu CD1a.

HLDA II - WS code T 130

### 15.2 Czułość analityczna

Czułość analityczna dla odczynnika do jakościowej cytometrii przepływowej polega na zdolności do oddzielania dodatnich (+) komórek od ujemnego (-) tła i została oceniona poprzez miareczkowanie odczynnika zawierającego przeciwciało.

Stężenie CyFlow™ CD1a APC w butelce (100 µg/ml) jest wystarczające, aby umożliwić oddzielenie komórek dodatnich od tła w próbce z prawidłową lub nieprawidłową ekspresją antygenu oczekiwaną w pewnych stanach patologicznych.

### 15.3 Dane reprezentatywne

Aby określić wydajność barwienia odczynnikiem CyFlow™ CD1a APC, procent komórek dodatnich CD1a, został oznaczony przy użyciu dostępnej w handlu kontroli krwi pełnej barwionej dwoma seriami odczynników w pięciu powtórzeniach na serię.

CD1a+ komórki

kontrola krwi pełnej		
średnia (%)	SD	CV (%)
97.23	0.35	0.36

Tabela 1: Podsumowanie uzyskanych wyników

## 16 Ograniczenia

Test przeznaczony jest dla użytkowników należących do fachowego personelu medycznego w laboratoriach klinicznych wykonujących analizę metodą cytometrii przepływowej.

Pojedynczy odczynnik zawierający przeciwciało może dostarczyć tylko ograniczone informacje diagnostyczne. Stosowanie kombinacji odczynników może dostarczyć więcej informacji niż stosowanie odczynników indywidualnie, a analiza wielokolorowa przy użyciu odpowiednich kombinacji odczynników jest wysoce zalecana. Laboratoria powinny zidentyfikować kombinacje odczynników, które najlepiej odpowiadają ich potrzebom, w oparciu o właściwości każdego pojedynczego odczynnika zawierającego przeciwciała oraz obecność markerów w próbkach prawidłowych i nieprawidłowych. Takie kombinacje odczynników powinny być następnie zatwierdzone przez laboratorium w oparciu o to zastosowanie i zamierzone zastosowanie.

Próbki krwi od osób, które nie są zdrowe, mogą wykazywać nieprawidłowe wartości komórek dodatnich.

Hemoliza może wskazywać na niewłaściwe warunki przechowywania, które mogą mieć wpływ na działanie produktu pod względem zdolności do lizy. Dlatego należy wykluczyć próbki hemolizowane. W przypadku hiperleukocytozy zaleca się rozcieńczyć próbki krwi przy użyciu PBS do stężenia  $5 \times 10^6$  leukocytów/ml.

Krwinki czerwone od pacjentów z zaburzeniami (np. pacjentów z policytemią) mogą być odporne na lizę przy użyciu roztworów do lizy.

Dane dotyczące wydajności odczynnika zostały zgromadzone przy użyciu krwi poddanej działaniu K3 EDTA. Inne antykoagulanty mogą wpływać na wydajność odczynnika.

Cytometr przepływowy może dawać fałszywe wyniki, jeśli urządzenie nie zostało odpowiednio wycentrowane i konserwowane.

*Sysmex Partec GmbH* zaleca stosowanie procedury Lyse/Wash. Procedurę Lyse/No-wash należy stosować z ostrożnością i tylko wtedy, gdy przeciwciała monoklonalne zostało zatwierdzone do zamierzonego badania.

Dane mogą być błędnie interpretowane, jeśli sygnały fluorescencyjne zostały źle skompensowane lub jeśli bramki zostały ustawione nieprawidłowo.

Produkt oznaczony jako CE IVD jest przeznaczony do zastosowań diagnostycznych in vitro w laboratoriach poza USA.

## 17 Piśmiennictwo

- Wood GS, Burns BF, Dorfman RF, Warnke RA: The immunohistology of non-T cells in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Pathol.* 1985 Sep; 120(3):371-9. < PMID: 3898858 >
- Zimmer MI, Larregina AT, Castillo CM, Capuano S 3rd, Falo LD Jr, Murphey-Corb M, Reinhart TA, Barratt-Boyes SM: Disrupted homeostasis of Langerhans cells and interdigitating dendritic cells in monkeys with AIDS. *Blood.* 2002 Apr 15; 99(8):2859-68. < PMID: 11929776 >
- Tenca C, Merlo A, Zarcone D, Saverino D, Bruno S, De Santanna A, Ramarli D, Fabbi M, Pesce C, Deaglio S, Ciccone E, Malavasi F, Grossi CE: Death of T cell precursors in the human thymus: a role for CD38. *Int Immunol.* 2003 Sep; 15(9):1105-16. < PMID: 12917263 >
- Brown KN, Trichel A, Barratt-Boyes SM: Parallel loss of myeloid and plasmacytoid dendritic cells from blood and lymphoid tissue in simian AIDS. *J Immunol.* 2007 Jun 1; 178(11):6958-67. < PMID: 17513745 >
- Awasthi S, Wolf R, White G: Ontogeny and phagocytic function of baboon lung dendritic cells. *Immunol Cell Biol.* 2009 Jul; 87(5):419-27. < PMID: 19223853 >
- Kader M, Smith AP, Guiducci C, Wonderlich ER, Normolle D, Watkins SC, Barrat FJ, Barratt-Boyes SM: Blocking TLR7- and TLR9-mediated IFN- $\alpha$ : production by plasmacytoid dendritic cells does not diminish immune activation in early SIV infection. *PLoS Pathog.* 2013; 9(7):e1003530. < PMID: 23935491 >

## 18 Kontakt

### Producent



Sysmex Partec GmbH  
Arndtstraße 11 a-b  
02826 Görlitz, Niemcy  
[www.sysmex-partec.com](http://www.sysmex-partec.com)


Tel +49 3581 8746 0  
Fax +49 3581 8746 70  
E-mail: [info@sysmex-partec.com](mailto:info@sysmex-partec.com)

## 19 Numer wersji IFU i data wydania

Rewizja :                      Rew.2\_2022-12-2  
Wydane przez :              Sysmex Partec GmbH



## 20 Symbolika

	Numer referencyjny		Data ważności
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Zawiera wystarczającą ilość dla <n> testów
	Oznakowanie CE		Kod partii
	Klon komórek hybrydoma stosowany do wytwarzania przeciwciała monoklonalnego		Limit temperatury
	Producent		Chronić przed światłem słonecznym
	Ostrożnie		Sprawdź instrukcje użytkowania
	Unikalny identyfikator urządzenia		Oznakowanie UKCA
	Oświadczenie dla różnych krajów Ameryki Łacińskiej		