



Instrukcja użycia

Identyfikacja odczynnika IVD

CyFlow™ Kappa-LC Pacific Blue™

REF

AN991191

IVD

CE

Karta charakterystyki tego produktu jest dostępna pod adresem 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	7
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	9
19	Numer wersji IFU i data wydania	9
20	Symbolika	9

1 Specyfikacja

Swoistość	ludzki κ light chains
Fluorochrom	Pacific Blue™
Klon	TB28-2
Gospodarz / Izotyp	Mysz / IgG1
Zawartość	100 testów, 1 mL
Stosowanie	10 μ L na test

2 Przeznaczenie

IVD

Do stosowania w diagnostyce in vitro.

Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ Kappa-LC Pacific Blue™ jest przeznaczone do jakościowej diagnostyki in vitro w celu identyfikacji komórek przedstawiających ludzki antygen κ light chains w antykoagulowanej krwi za pomocą przepływowej analizy cytometrycznej. Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ Kappa-LC Pacific Blue™ 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™ Kappa-LC Pacific Blue™ 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™ Kappa-LC Pacific Blue™ zachowuje właściwości użytkowe po wprowadzeniu do użytku przez co najmniej 545 dni.

5 Komponenty

Mysie przeciwciało monoklonalne (klon TB28-2, izotyp IgG1) skierowane przeciwko ludzkiemu antygenowi k light chains, znakowane fluorochromem Pacific Blue™.

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 azydek sodu (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 próbki do barwienia próbek krwi

Pipety z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 1000 μl

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 biologiczne. Probki 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 100 µl próbki krwi do probówki.
2. 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.
3. Inkubować przez 10-15 minut w temperaturze pokojowej (18-28 °C).
3. Odwirowywać probówki przez 5 minut przy 300 g i usunąć supernatant przez dekantację.
4. Zawiesić ponownie osad komórkowy przy użyciu 2 ml PBS.
5. Odwirowywać probówki przez 5 minut przy 300 g i usunąć supernatant przez dekantację.
7. Zawiesić ponownie osad komórkowy i dostosować objętość zawiesiny komórek do około 100 µl z buforem (na przykład PBS).
8. Dodać 10 µl odczynnika CyFlow™ zawierającego przeciwciała monoklonalne do probówki i wymieszać delikatnie wytrząsarką Vortex.
9. Inkubować przez 20-30 minut w temperaturze pokojowej (18-28 °C) w ciemności.
10. Dodać 2 ml PBS do zawiesiny komórek.
11. Odwirowywać probówki przez 5 minut przy 300 g i usunąć supernatant przez dekantację.

12. W celu późniejszej analizy w cytometrze przepływowym ponownie zawiesić osad komórek w odpowiedniej objętości PBS dostosowanej do cytometru przepływowego.

13. 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.

14. 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

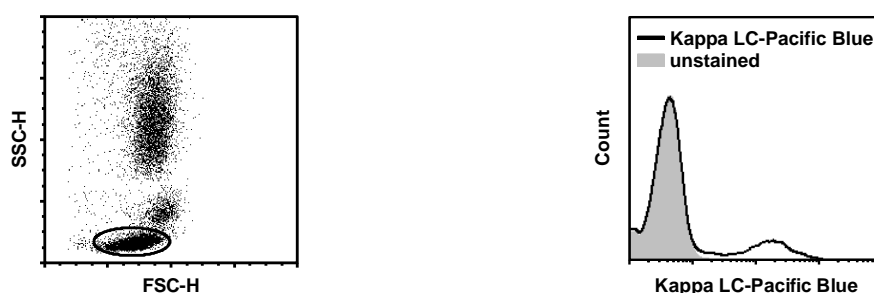
Dane należy zgromadzić i przeanalizować przy użyciu cytometru przepływowego o odpowiedniej konfiguracji.

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 k light chains+ zgodnie z charakterystyką emisji fluorochromu.

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

Dane reprezentatywne CyFlow™ Kappa-LC Pacific Blue™ wykonane dla krwi pełnej i bramkowane na limfocyty są przedstawione na ryc. 1.



Ryc. 1: Dane reprezentatywne CyFlow™ Kappa-LC Pacific Blue™, przeanalizowane cytometrem przepływowym wyposażonym w laser fioletowy (wzbudzenie laserowe 405 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

Przeciwciała CyFlow™ Kappa-LC są swoiste dla lekkich łańcuchów kappa ludzkich immunoglobulin. Immunoglobuliny zawierające łańcuchy lekkie kappa są obecne na około 60% normalnych limfocytów B i na komórkach białaczkowych Igκ +.

15.2 Czulość analityczna

Czulość 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™ Kappa-LC Pacific Blue™ w butelce (80 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™ Kappa-LC Pacific Blue™, procent komórek dodatnich κ light chains, bramkowanych na limfocytach B, został oznaczony przy użyciu pięciu próbek krwi, od zdrowych dawców, barwionych dwoma seriami odczynników w pięciu powtórzeniach na serię i próbkę.

κ light chains+ komórki (bramkowanych na limfocytach B)					
	próbka #1	próbka #2	próbka #3	próbka #4	próbka #5
średnia (%)	65.09	62.19	55.07	63.80	57.71
SD	3.36	2.28	1.89	2.37	1.85
CV (%)	5.17	3.67	3.43	3.71	3.20

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 5×10^6 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

- Kiyotaki M, Cooper MD, Bertoli LF, Kearney JF, Kubagawa H: Monoclonal anti-Id antibodies react with varying proportions of human B lineage cells. *J Immunol.* 1987 Jun 15; 138(12):4150-8. < PMID: 3495581 >
- Nakamura T, Kubagawa H, Cooper MD: Heterogeneity of immunoglobulin-associated molecules on human B cells identified by monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992 Sep 15; 89(18):8522-6. < PMID: 1382292 >
- Karandikar NJ, Aquino DB, McKenna RW, Kroft SH: Transient myeloproliferative disorder and acute myeloid leukemia in Down syndrome: An immunophenotypic analysis. *Am J Clin Pathol.* 2001 Aug; 116(2):204-10. < PMID: 11488066 >
- Böttcher S, Ritgen M, Buske S, Gesk S, Klapper W, Hoster E, Hiddemann W, Unterhalt M, Dreyling M, Siebert R, Kneba M, Pott C: EU MCL MRD Group: Minimal residual disease detection in mantle cell lymphoma: methods and significance of four-color flow cytometry compared to consensus IGH-polymerase chain reaction at initial staging and for follow-up examinations. *Haematologica.* 2008 Apr; 93(4):551-9. < PMID: 18379010 >
- Jourdan M, Caraux A, De Vos J, Fioll G, Larroque M, Cognot C, Bret C, Duperray C, Hose D, Klein B: An in vitro model of differentiation of memory B cells into plasmablasts and plasma cells including detailed phenotypic and molecular characterization. *Blood.* 2009 Dec 10; 114(25):5173-81. < PMID: 19846886 >
- Ildikó Frigyesi, Jörgen Adolfsson, Mina Ali, Mikael Kronborg Christophersen, Ellinor Johnsson, Ingemar Turesson, Urban Gullberg, Markus Hansson, Björn Nilsson: Robust isolation of malignant plasma cells in multiple myeloma. *Blood.* 2014 Feb 27; 123(9):1336 - 1340. < PMID: 24385542 >

18 Kontakt

Producent



Sysmex Partec GmbH
Arndtstraße 11 a-b
02826 Görlitz, Niemcy
www.sysmex-partec.com

Tel +49 3581 8746 0
Fax +49 3581 8746 70
E-mail: info@sysmex-partec.com

19 Numer wersji IFU i data wydania

Rewizja : Rew.4_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		

Niniejszy produkt jest dostarczany na podstawie licencji własności intelektualnej Life Technologies Corporation, która zezwala na korzystanie z takiej własności intelektualnej w związku z zakupionym produktem wyłącznie w celu zapewnienia badań medycznych lub diagnostycznych, analiz lub badań przesiewowych, w tym wykorzystania w celu wytyczania strategii terapeutycznej lub określania wyników lub dostarczania informacji klinicznych lub analiz klinicznych w zamian za rekompensatę za każdy test, w ramach parametrów określonych w załączonej dokumentacji dotyczącej produktu. Przekazanie tego produktu jest uwarunkowane tym, że kupujący nie będzie używał tego produktu do celów terapeutycznych lub profilaktycznych, do produkcji innego produktu lub do jakiegokolwiek innego celu, który nie jest wyraźnie dozwolony. W celu uzyskania informacji na temat zakupu licencji na ten produkt do celów innych niż opisane powyżej należy skontaktować się z Life Technologies Corporation, 5791 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008 USA lub outlicensing@lifetech.com.