

PRZEZNACZENIE

Przeciwciało CD81 jest przeznaczone do stosowania w diagnostyce in vitro do identyfikacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD81 za pomocą cytometru przepływowego.

Odczynnik jest przeznaczony do użycia przez personel wykwalifikowany w zakresie obsługi cytometru przepływowego.

DOSTARCZONY ODCZYNNIK

Monoklonalne przeciwciało anty-ludzkie-CD81 oznaczone tandemem allofikocyjaniny-C750 (APC-C750™) dostarczane jest w PBS z 1% albuminy surowicy bydlęcej (BSA) i 0,09% azydku sodu (NaN₃).

Klon: M38

Reaktywność: człowiek

Izotyp: mysie IgG1

Oczyszczanie: chromatografia powinowactwa

Fluorochrom: allofikocyjanina-C750 (APC-C750™)

Ilość na fiolkę: 0,15 ml (50 testów; 3 µl/test)

Odczynnik nie jest produktem jałowym.

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Odczynnik przechowywany w temperaturze 2–8°C zachowuje stabilność do daty ważności podanej na etykiecie. W czasie przechowywania lub inkubacji z komórkami odczynnika nie można mrozić lub wystawiać na bezpośrednie działanie światła. Fiolkę należy przechowywać w suchym miejscu. Po otwarciu fiolkę należy przechowywać pionowo, aby uniknąć wylania zawartości.

OSTRZEŻENIA I ZALECENIA

1. Do użytku w diagnostyce in vitro.
2. Należy przestrzegać lokalnych przepisów dotyczących utylizacji odpadów oraz zaleceń zawartych w karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS), aby zapewnić bezpieczną utylizację produktu.
3. Odczynnik przechowywany prawidłowo zachowuje stabilność do daty ważności podanej na etykiecie. Nie używać po upływie daty ważności wskazanej na etykiecie.
4. Zmiany w wyglądzie odczynnika, takie jak wytrącanie osadu lub zmiana koloru, wskazują na niestabilność i pogorszenie jakości. W takich przypadkach odczynnika nie należy używać.
5. Wszystkie próbki biologiczne i materiały stykające się z odczynnikiem są uznawane za zagrożenie biologiczne. Należy postępować z nimi jak z materiałami mogącymi przenosić zakażenia^{1, 2} i utylizować, stosując właściwe środki ostrożności, zgodnie z przepisami krajowymi, regionalnymi i lokalnymi. Nie pipetować ustami. Należy nosić odpowiednią odzież ochronną, okulary i rękawice.
6. Stosowanie odczynnika o czasie inkubacji lub temperaturze innej niż zalecana może być przyczyną błędnych wyników. Wszelkie takie zmiany muszą zostać zatwierdzone przez użytkownika.
7. Informacje dotyczące identyfikacji i klasyfikacji zagrożeń oraz oświadczenia dotyczące środków ostrożności, które należy zachować względem substancji chemicznych zawartych w wyrobie można znaleźć w karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej dostępnej na żądanie pod adresem e-mail support@cytognos.com.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Odczynniki mogą być stosowane do immunofenotypowania metodą cytometrii przepływowej próbek różnych typów, takich jak krew obwodowa, aspiraty i biopłaty szpiku kostnego, inne płyny ustrojowe lub tkanki. Każdego rodzaju próbek mogą dotyczyć odmienne warunki przechowywania i ograniczenia, które należy uwzględnić przed pobraniem i analizą^{3, 4}. Próbki zawierające duże liczby martwych komórek mogą dać błędne wyniki z powodu selektywnej utraty populacji i zwiększonego nieswoistego wiązania przeciwciał do martwych komórek. Należy oszacować żywotność komórek w próbkach i ustalić wartość graniczną. Sugerowana jest wartość graniczna wynosząca co najmniej 75% żywych komórek⁵.

Próbkę pobrać do sterylnej probówki zawierającej antykoagulant (zaleca się stosowanie EDTA). Przechowywać próbki w temperaturze 18–22°C do czasu przetwarzania – maksymalnie przez 24 godziny od pobrania. Nie należy używać próbek hemolizowanych lub zawierających zawiesinę komórek.

PROCEDURA

Materiały wymagane, ale niedostarczane

- Cytometr przepływowy do wykrywania odpowiedniej fluorescencji oraz sprzęt i oprogramowanie wyposażone do zbierania i analizy danych.
- Jednorazowe probówki testowe do cytometrii przepływowej o wymiarach 12 × 75 mm (o pojemności 5 ml)
- Pipeta automatyczna i końcówki
- Chronometr
- Wytrząsarka typu wortex
- Roztwór lizujący BD FACS™ Lysing Solution (nr katalogowy: 349202).
 - Ostrzeżenia i środki ostrożności można znaleźć w instrukcji użytkowania roztworu lizującego BD FACS™ Lysing Solution.
- Wirówka
- Bufor płuczający (przefiltrowany roztwór soli fizjologicznej buforowanej fosforanem [PBS] zawierający 0,09% [w/v] NaN_3 , 0,2% [w/v] albuminy surowicy bydlęcej [BSA] i kwas etylenodiaminotetraoctowy [EDTA] 2 mM)
- Bufor do akwizycji (przefiltrowany roztwór PBS zawierający 0,2% [w/v] BSA i EDTA 2 mM [bez NaN_3])

Zalecana procedura barwienia

1. Fiolki odwirować przed każdym użyciem.
2. Wymieszać, poprzez delikatne wortexowanie, 100 μl próbki z 3 μl CD81 APC-C750™.
3. Inkubować przez w ciemności w temperaturze pokojowej przez 15 minut.
4. Dodać 2 ml roztworu lizującego BD FACS™ Lysing Solution (1X), delikatnie wymieszać i inkubować próbkę w ciemności w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
5. Wirować z przyspieszeniem 540 g przez 5 minut.
6. Usunąć supernatant przy użyciu pipety Pasteura lub laboratoryjnego systemu próżniowego, nie naruszając przy tym osadu komórek.
7. Dodać 4 ml buforu płuczającego, delikatnie wymieszać i wirować z przyspieszeniem 540 g przez 5 minut.
8. Usunąć supernatant przy użyciu pipety Pasteura lub laboratoryjnego systemu próżniowego, nie naruszając przy tym osadu komórek.
9. Ponownie zawiesić osad komórek w 200 μl buforu do akwizycji.

Akwizycja i analiza za pomocą cytometrii przepływowej

Zbieranie i analiza próbki powinno być wykonywane przy użyciu odpowiedniego cytometru przepływowego wyposażonego w oprogramowanie do akwizycji i analizy. Firma Cytognos zaleca stosowanie oprogramowania Infinicyt™ do analizy w cytometrze przepływowym. Więcej informacji na temat oprogramowania Infinicyt™ można znaleźć na stronie : <https://www.cytognos.com/infinicyt>.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Dla jednokolorowych odczynników nie określono punktu decyzji medycznej oraz oczekiwanych wartości parametrów wydajności takich jak czułość diagnostyczna, swoistość diagnostyczna, wartość predykcyjna dodatnia, wartość predykcyjna ujemna, współczynnik prawdopodobieństwa dla normalnych i zmienionych populacji. Dlatego każde laboratorium powinno określić własne zakresy referencyjne dla badanych populacji.

WYDAJNOŚĆ ANALITYCZNA

- Swoistość**

Antygen CD81 to tetraspanina kodowana przez gen CD81 znajdujący się na chromosomie 11 (11p15.5). Ze względu na swoją lokalizację może ulegać modyfikacjom z powodu różnych chorób⁶.

Przeciwciała anty-CD81 (klon M38) rozpoznaje antygen CD81, którego ekspresja występuje na normalnych⁷⁻¹⁰, nieprawidłowych⁷, reaktywnych komórkach prekursorowych B⁷⁻¹⁰; niedojrzałych komórkach B^{9,10}, komórkach pamięci B⁸ oraz komórkach plazmablastycznych⁸ w normalnych i nieprawidłowych⁸⁻¹⁵ komórkach plazmatycznych, mieloidalnych komórkach prekursorowych⁹, komórkach endotelialnych⁹, komórkach mezenchymalnych⁹ oraz monocytach/makrofagach związanych z nowotworem (TAM)¹⁵.

- Precyzja**

Powtarzalność:

Użyto trzech różnych partii CD81 APC-C750™ (CYT-81AC750). Trzy (3) próbki normalnej krwi obwodowej (PB) od zdrowych dawców zostały zabarwione przy użyciu trzech partii odczynnika, pobrane i przeanalizowane (trzy powtórzenia na dawcę na partię, N=9). Cała procedura, od przygotowania próbki po akwizycję i analizę danych, została wykonana przez tego samego technika, w tej samej lokalizacji, tego samego dnia. Wyniki analizy w zakresie MedFI (średniej intensywności fluorescencji), odchylenia standardowego (SD) i współczynnika zmienności (CV) przedstawiono w tabeli poniżej:

CYT-81AC750 partia 2011262-30-E			
	Próbka 1 MedFI	Próbka 2 MedFI	Próbka 3 MedFI
Powtórzenie 1	2 008,00	3 344,00	2 968,00
Powtórzenie 2	2 043,00	3 469,00	2 985,00
Powtórzenie 3	2 019,00	3 436,00	2 940,00
Średnia	2 023,33	3 416,33	2 964,33
SD	17,90	64,78	22,72
%CV	0,88	1,90	0,77

Średni %CV	<u>1,18</u>
------------	-------------

CYT-81AC750 partia 2011263-30-E			
	Próbka 1 MedFI	Próbka 2 MedFI	Próbka 3 MedFI
Powtórzenie 1	2 035,00	3 364,00	2 765,00
Powtórzenie 2	1 947,00	3 190,00	2 694,00
Powtórzenie 3	1 898,00	3 267,00	2 823,00
Średnia	1 960,00	3 273,67	2 760,67
SD	69,42	87,19	64,61
%CV	3,54	2,66	2,34

Średni %CV	<u>2,85</u>
------------	-------------

CYT-81AC750 partia 2011515-30-E			
	Próbka 1 MedFI	Próbka 2 MedFI	Próbka 3 MedFI
Powtórzenie 1	3 282,00	2 835,00	4 872,00
Powtórzenie 2	3 281,00	2 861,00	4 814,00
Powtórzenie 3	3 126,00	2 752,00	4 771,00
Średnia	3 229,67	2 816,00	4 819,00
SD	89,78	56,93	50,69
%CV	2,78	2,02	1,05

Średni %CV	<u>1,95</u>
------------	-------------

CD81-APC-C750™	
Populacja stanowiąca przedmiot zainteresowania	Wyniki
CD81 ⁺ komórki B	%CV PARTIA-2011262-30-E = 1,18
	%CV PARTIA-2011263-30-E = 2,85
	%CV PARTIA-2011515-30-E = 1,95

Odtwarzalność:

Użyto jednej partii CD81 APC-C750™ (CYT-81AC750). Partię sprawdzono przy użyciu trzech próbek krwi obwodowej od zdrowych dawców. Testy wykonywało czterech różnych techników. Próbkę pobrano na czterech (4) różnych cytometrach przepływowych (w trzech lokalizacjach), dwa razy tego samego dnia (rano i po południu). Pliki otrzymane po akwizycji analizowano w trzech powtórzeniach (N=18). Wyniki analizy przedstawiono w tabelach poniżej:

BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek B)	SD	%CV
6,41	0,16	2,55

Northern Lights™ (Cytek®), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek B)	SD	%CV
6,65	0,33	5,88

BD FACSLytic™ (BD Biosciences), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek B)	SD	%CV
6,79	0,28	3,90

Omnicyt™ (Cytognos), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek B)	SD	%CV
6,91	0,23	3,53

CD81-APC-C750™	
Populacja stanowiąca przedmiot zainteresowania	Łączny średni-%CV
CD81 ⁺ komórki B	3,84

OGRANICZENIA

- W celu uzyskania optymalnych rezultatów zaleca się akwizycję barwionych próbek w ciągu 24 godzin. Martwe komórki mogą wykazać barwienie niespecyficzne. Długotrwałe wystawienie komórek na odczynniki lizujące może spowodować zniszczenie białych krwinek i utratę komórek populacji docelowej.
- Obecność jądrazstych krwinek czerwonych oraz nieprawidłowe stężenie białek lub hemoglobinopatii może doprowadzić do niepełnej lizy erytrocytów. Te warunki mogą spowodować fałszywie niską liczbę komórek, gdyż erytrocyty mogą zostać uznane za limfocyty.
- Błędne wyniki można uzyskać, jeśli laser cytometru nie jest wyrównany lub jeśli do analizy użyte zostaną nieprawidłowe schematy.
- Znajomość normalnych wzorców ekspresji antygenów i jego relacji z innymi znaczącymi antygenami jest kluczowa do prawidłowej analizy.

KONTROLA JAKOŚCI

- Aby uzyskać optymalne wyniki, zaleca się sprawdzenie precyzji pipet oraz kalibracji cytometru.
- Fluorochromy używane w cytometrze przepływowym emitują przy różnych długościach fal, co prowadzi do nakładania się widm. Elektroniczna kompensacja jest wykorzystywana w celu korekty nakładania się widm, gdy różne połączenia monoklonalne są sprzęgane z tymi fluorochromami.
- Wyrób ten został wyprodukowany zgodnie z normami produkcji i systemem jakości określonymi w normach ISO 13485:2016 i ISO 9001:2015.

UWAGA

Tylko UE: użytkownicy powinni zgłaszać wszelkie poważne wypadki związane z wyrobem producentowi i właściwemu organowi krajowemu.

Poza UE: w przypadku jakichkolwiek incydentów lub zapytań związanych z tym wyrobem należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Cytognos.

GWARANCJA







Gwarancja na ten produkt jest udzielana wyłącznie w celu zapewnienia zgodności z ilością i zawartością podaną na etykiecie. Nie obowiązują gwarancje, które wykraczają poza opis na etykiecie produktu. Wyłączna odpowiedzialność firmy Cytognos jest ograniczona do wymiany produktu lub zwrotu kosztów zakupu.





PIŚMIENNICTWO

1. *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline—Fourth Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. CLSI document M29-A4.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. Published 2007. Accessed June 23, 2022. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/isolation/index.html>
3. Rothe G, Schmitz G. Consensus protocol for the flow cytometric immunophenotyping of hematopoietic malignancies. *Leukemia*. 1996;10(5):877-895. doi:10.1038/SJ.LEU.2401612
4. Stelzer GT, Marti G, Hurley A, McCoy P, Lovett EJ, Schwartz A. U.S.-Canadian Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematologic Neoplasia by Flow Cytometry: Standardization and Validation of Laboratory Procedures. doi:10.1002/(SICI)1097-0320(19971015)30:5

5. *Clinical Flow Cytometric Analysis of Neoplastic Hematolymphoid Cells; Approved Guideline—Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007. CLSI document H43-A2.
6. Hasterok S, Nyesiga B, Gjörloff-Wingren A. CD81 (Cluster of Differentiation 81). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. 2020;(7). doi:10.4267/2042/70766
7. Theunissen P, Mejstrikova E, Sedek L, et al. Standardized flow cytometry for highly sensitive MRD measurements in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;129(3):347-357. doi:10.1182/blood-2016-07-726307
8. Mendonça De Pontes R, Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, et al. B-Cell Regeneration Profile and Minimal Residual Disease Status in Bone Marrow of Treated Multiple Myeloma Patients. *Cancers (Basel)*. 2021;13(7):1704. doi:10.3390/cancers13071704
9. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, et al. Next Generation Flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017;31(10):2094-2103. doi:10.1038/leu.2017.29
10. Stetler-Stevenson M, Paiva B, Stoolman L, et al. Consensus guidelines for myeloma minimal residual disease sample staining and data acquisition. *Cytometry B Clin Cytom*. 2016;90(1):26-30. doi:10.1002/cyto.b.21249
11. Kriegsmann K, Hundemer M, Hofmeister-Mielke N, et al. Comparison of NGS and MFC Methods: Key Metrics in Multiple Myeloma MRD Assessment. *Cancers (Basel)*. 2020;12(8):2322. doi:10.3390/cancers12082322
12. van Dongen JJM, Lhermitte L, Böttcher S, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012;26(9):1908-1975. doi:10.1038/leu.2012.120
13. Kastritis E, Kostopoulos I v, Terpos E, et al. Evaluation of minimal residual disease using next-generation flow cytometry in patients with AL amyloidosis. *Blood Cancer J*. 2018;8(5):46. doi:10.1038/s41408-018-0086-3
14. Terpos E, Kostopoulos I v, Kastritis E, et al. Impact of Minimal Residual Disease Detection by Next-Generation Flow Cytometry in Multiple Myeloma Patients with Sustained Complete Remission after Frontline Therapy. *Hemasphere*. 2019;3(6):e300-e300. doi:10.1097/HS9.0000000000000300
15. Papadimitriou K, Tsakirakis N, Malandrakis P, et al. Deep Phenotyping Reveals Distinct Immune Signatures Correlating with Prognostication, Treatment Responses, and MRD Status in Multiple Myeloma. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3245. doi:10.3390/cancers12113245

OBJAŚNIENIE SYMBOLI

	Użyć przed datą
	Numer katalogowy
	Kod partii
	Przechowywać z dala od światła słonecznego
	Ograniczenie temperatury
	Zapoznać się z <i>instrukcją użytkowania</i> lub <i>instrukcją użytkowania</i> w formie elektronicznej

	Wytwórca
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zawartość wystarcza na <n> testów
	Oznaczenie CE; oznacza europejską zgodność techniczną

PRODUCENT



CYTOGNOS SL
 Polígono La Serna, Nave 9
 37900 Santa Marta de Tormes

Salamanca (Hiszpania)

Telefon: + 34-923-125067

Faks: + 34-923-125128

Informacje dotyczące składania zamówień: admin@cytognos.com

Informacje techniczne: support@cytognos.com



BD Switzerland Sàrl
 Route de Crassier 17
 Business Park Terre-Bonne
 Bâtiment A4
 1262 Eysins
 Switzerland



www.cytognos.com

HISTORIA WERSJI

Wersja	Data	Modyfikacje
1.0	2019-11-27	Utworzenie dokumentu
2.0	2022-03-16	Odniesienie do karty charakterystyki substancji niebezpiecznej w sprawie zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia związanych z substancjami chemicznymi w wyrobie. Odniesienie do norm ISO 13485:2016 i ISO 9001:2015 dotyczących systemów zarządzania jakością Poprawiono wartość procentową azydru sodu. Zmieniono nagłówek „WYTWÓRCA” na „PRODUCENT”. Dodano wykres historii wersji.
3.0	2022-05-24	Zaktualizowano w celu spełnienia wymogów rozporządzenia (UE) 2017/746
4.0	2022-06-30	Zaktualizowano w celu harmonizacji koncepcji i sposobu przedstawiania informacji. Usunięto kryteria akceptacji w części Charakterystyka wydajnościowa. Zaktualizowano część Swoistość o nowe odniesienia.
4.1	2022-10-12	Poprawiono błąd w tłumaczeniu, który wpłynął na objętość buforu do ponownego zawieszenia osadu komórek.
5.0	2022-11-21	Dodano informacje dotyczące autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii.