

## PRZEZNACZENIE

CD38-multi-epitope (CD38-ME) jest przeznaczone do stosowania w diagnostyce in vitro do identyfikacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD38 za pomocą cytometru przepływowego.

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

## DOSTARCZONY ODCZYNNIK

Poliklonalne, wieloepitopowe przeciwciało anti-ludzkie CD38 oznaczone izotiocyanianem fluoresceiny (FITC) dostarczane jest w PBS z 1% albuminy surowicy bydlęcej (BSA) i 0,09% azydru sodu ( $\text{NaN}_3$ ).

Klon: poliklonalne

Reaktywność: człowiek

Izotyp: nie dotyczy

Oczyszczanie: chromatografia powinowactwa

Fluorochrom: izotiocyanian fluoresceiny (FITC)

Ilość na fiolkę: 0,25 ml (50 testów; 5  $\mu\text{l}$ /test)

Odczynnik nie jest produktem jałowym.

## WARUNKI PRZECZOWYWANIA

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<sup>1, 2</sup> 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](mailto: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 biopaty szpiku kostnego, inne płyny ustrojowe lub tkanki. Każdego rodzaju próbek mogą dotyczyć odmienne warunki przechowywania i ograniczenia, które należy uwzględnić przed pobraniem i analizą<sup>3, 4</sup>. Próbkę zawierającą 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 komórek<sup>5</sup>.

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
- Wyrząsarka 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 płuczący (przefiltrowany roztwór soli fizjologicznej buforowanej fosforanem [PBS] zawierający 0,09% [w/v] NaN<sub>3</sub>, 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<sub>3</sub>])

### Zalecana procedura barwienia

1. Fiolki z odczynnikami odwirować przed każdym użyciem.
2. Wymieszać, poprzez delikatne wortexowanie, 100 µl próbki z 5 µl CD38-ME FITC.
3. Inkubować przez 15 minut 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 próbek 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**

Odczynnik CD38 rozpoznaje antygen CD38, znany również jako cyklaza ADP-rybozylu. To przezbłonowa glikoproteina typu II przekształcająca NADP<sup>+</sup> w cADP-rybozę<sup>6</sup>. Jej ekspresja występuje na różnych poziomach w większości komórek hematopoetycznych (podczas wczesnego różnicowania i aktywacji) oraz w niektórych tkankach niehematopoetycznych<sup>7</sup>.

Do jej ekspresji dochodzi na wysokich poziomach w komórkach plazmatycznych. Ze względu na tą silną reaktywność antygeny CD38 uważane są za specyficzne markery komórek plazmatycznych<sup>8</sup>. Są również obecne w tymocytach, aktywowanych komórkach T, komórkach NK, monocytach i bazofilach<sup>9-11</sup>.

Antygen CD38 odgrywa bardzo ważną rolę jako regulator (dodatni i ujemny) aktywacji i proliferacji komórek i jest zaangażowany w adhezję pomiędzy limfocytami i komórkami endotelialnymi<sup>7</sup>.

- Precyzja**

**Powtarzalność:**

Użyto trzech różnych partii CD38-ME FITC. Trzy (3) próbki normalnej krwi obwodowej (PB) od zdrowych dawców dodano do 10% linii komórkowej RPMI 8226. Próbkę wybarwiono przy użyciu trzech partii odczynnika, a następnie dokonano akwizycji i analizy w BD FACSCanto™ II (trzy powtórzenia na dawkę 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-38F2 partia 2011075-30-E		
	Próbka 1 MedFI	Próbka 2 MedFI	Próbka 3 MedFI
<b>Powtórzenie 1</b>	29 691,00	32 441,00	29 645,00
<b>Powtórzenie 2</b>	28 750,00	32 539,00	29 103,00
<b>Powtórzenie 3</b>	29 665,00	30 406,00	30 510,00
<b>Średnia</b>	29 368,67	31 795,33	29 752,67
<b>SD</b>	535,94	1 204,20	709,65
<b>%CV</b>	<b>1,82</b>	<b>3,79</b>	<b>2,39</b>

<b>Średni %CV</b>	<b><u>2,67</u></b>
-------------------	--------------------

	CYT-38F2 partia 2011076-30-E		
	Próbka 1 MedFI	Próbka 2 MedFI	Próbka 3 MedFI
<b>Powtórzenie 1</b>	24 094,00	28 161,00	23 304,00
<b>Powtórzenie 2</b>	23 539,00	25 629,00	23 971,00
<b>Powtórzenie 3</b>	24 064,00	25 922,00	22 486,00
<b>Średnia</b>	23 899,00	26 570,67	23 253,67
<b>SD</b>	312,13	1 385,04	743,78
<b>%CV</b>	<b>1,31</b>	<b>5,21</b>	<b>3,20</b>

Średni %CV	<u>3,24</u>
------------	-------------

CYT-38F2 partia 2101058-E			
	Próbka 1 MedFI	Próbka 2 MedFI	Próbka 3 MedFI
Powtórzenie 1	30 078,60	27 797,64	34 120,43
Powtórzenie 2	30 187,50	27 917,30	34 312,18
Powtórzenie 3	30 776,32	27 930,87	34 466,52
Średnia	30 347,47	27 881,94	34 299,71
SD	375,36	73,32	173,38
%CV	1,24	0,26	0,51

Średni %CV	<u>0,67</u>
------------	-------------

CD38-ME FITC	
Populacja stanowiąca przedmiot zainteresowania	Wyniki
CD38 <sup>+</sup> komórki plazmatyczne Linia komórkowa RPMI 8226	%CV PARTIA-2011075-30-E = 2,67
	%CV PARTIA-2011076-30-E = 3,24
	%CV PARTIA-2101058-E = 0,67

#### Odtwarzalność:

Użyto jednej partii CD38-ME FITC. Partię sprawdzono przy użyciu trzech próbek krwi obwodowej od zdrowych dawców z dodatkiem 10% linii komórkowej RPMI 8226. Testy wykonywało 4 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 plazmatycznych z 10% linii komórkowej RPMI 8226)	SD	%CV
8,18	0,26	3,16

Northern Lights™ (Cytex®), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek plazmatycznych z 10% linii komórkowej RPMI 8226)	SD	%CV
8,72	0,32	3,67

BD FACSLytic™ (BD Biosciences), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek plazmatycznych z 10% linii komórkowej RPMI 8226)	SD	%CV
8,36	0,34	3,95

Omnicyt™ (Cytognos), N=18		
ŚREDNIA (% częstotliwości komórek plazmatycznych z 10% linii komórkowej RPMI 8226)	SD	%CV
8,40	0,44	5,05

CD38-ME FITC	
Populacja stanowiąca przedmiot zainteresowania	Łączny średni %CV
CD38 <sup>+</sup> komórki plazmatyczne	3,96

## 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 odczynnik lizujący 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 antygenu 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. Schuber F, Lund F. Structure and enzymology of ADP-ribosyl cyclases: conserved enzymes that produce multiple calcium mobilizing metabolites. *Curr Mol Med*. 2004;4(3):249-261. doi:10.2174/1566524043360708
7. Mason D. *Leucocyte Typing VII. White Cell Differentiation Antigens*. Vol 56. Oxford University Press; 2001.
8. San Miguel JF, Gutiérrez NC, Mateo G, Orfao A. Conventional diagnostics in multiple myeloma. *Eur J Cancer*. 2006;42(11):1510-1519. doi:10.1016/J.EJCA.2005.11.039
9. Hudig D, Hunter KW, Diamond WJ, Redelman D. Properties of human blood monocytes. II. Monocytes from healthy adults are highly heterogeneous within and among individuals. *Cytometry B Clin Cytom*. 2014;86(2):121-134. doi:10.1002/CYTO.B.21141
10. Ferrero E, Malavasi F. The metamorphosis of a molecule: from soluble enzyme to the leukocyte receptor CD38. *J Leukoc Biol*. 1999;65(2):151-161. doi:10.1002/JLB.65.2.151
11. Han X, Jorgensen JL, Brahmandam A, et al. Immunophenotypic study of basophils by multiparameter flow cytometry. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(5):813-819. doi:10.5858/2008-132-813-ISOBMM

## OBJAŚNIENIE SYMBOLI

	Użyć przed datą
	Numer katalogowy
	Kod partii
	Ograniczenie temperatury
	Przechowywać z dala od światła słonecznego
	Zapoznać się z <i>instrukcją użytkownika</i> lub <i>instrukcją użytkownika</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](mailto:admin@cytognos.com)

Informacje techniczne: [support@cytognos.com](mailto:support@cytognos.com)



**BD Switzerland Sàrl**

Route de Crassier 17

Business Park Terre-Bonne

Bâtiment A4

1262 Eysins

Switzerland



[www.cytognos.com](http://www.cytognos.com)

## HISTORIA WERSJI

Wersja	Data	Modyfikacje
1.0	2019-01-29	Utworzenie dokumentu
2.0	2022-03-28	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	2022-05-18	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.