

IOTest

Conjugated Antibody

CD79a-APC

REF B36287 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

TABLE OF CONTENTS

English	2
Français (FR)	7
Deutsche (DE)	12
Italiano (IT)	17
Español (ES)	22
Português Portugal (PT-PT)	27
Dansk (DK)	32
Svenska (SE)	37
Norsk (NO)	42
Suomi (FI)	47
Ελληνικά (GR)	52
日本語 (JP)	57
中文 (中国) (ZH-CN)	62
Lietuvių (LT)	67
Magyar (HU)	72
Polski (PL)	77
Čeština (CZ)	82
Slovák (SK)	87
한국어 (KR)	92
Türkçe (TR)	97
Русский (RU)	102
Eestlane (EE)	107
Hrvatski (HR)	112
Български (BG)	117
中文 (台灣) (ZH-TW)	122
Română (RO)	127
Slovenščina (SI)	132
Srpski (Latinški) (SP)	137
Latviešu (LV)	142
Українська (UA)	147
Português Brasil (PT-BR)	152
Nederlands (NL)	157
Tiếng Việt (VN)	162
Қазақша (KZ)	167
APPENDIX	172
REFERENCES	173

	Specifications
Specificity	CD79a
Clone	HM47
Hybridoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobulin	IgG1
Species	Mouse
Purification	Affinity Chromatography
Fluorochrome	Allophycocyanin (APC)
Molar ratio	APC / Ig: 0.5 - 1.5
λ excitation	633/638 nm
Emission Peak	660 nm
Buffer	PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA and 0.1% NaN ₃

IOTest Conjugated Antibody CD79a-APC

REF B36287 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

For *In Vitro* Diagnostic Use

INTENDED USE

This fluorochrome-conjugated antibody allows the qualitative and non automated identification of cell populations expressing the CD79a antigen present in human biological samples using flow cytometry (see section "Samples" below).

PRINCIPLE

This test is based on the ability of specific monoclonal antibodies to bind to the antigenic determinants expressed by leucocytes.

Permeability is induced in the cytoplasmic membranes of leucocytes for the demonstration of intracellular antigenic determinants by means of monoclonal fluorescent antibodies. The leucocytes are then analyzed by flow cytometry.

The flow cytometer measures light diffusion and the fluorescence of cells. It makes possible the delimitation of the population of interest within the electronic window defined on a histogram, which correlates the orthogonal diffusion of light (Side Scatter or SS) and the diffusion of narrow-angle light (Forward Scatter or FS). Other histograms combining two of the different parameters available on the cytometer can be used as supports in the gating stage depending on the application chosen by the user.

The fluorescence of the delimited cells is analyzed in order to distinguish the positively-stained events from the unstained ones. The results are expressed as a percentage of positive events in relation to all the events acquired by the gating.

INTENDED USER

This product is intended for laboratory professional use.

CLINICAL RELEVANCE

The CD79a-APC is a CD79a antibody used to identify and characterize cells expressing the CD79a antigen by flow cytometry. This product alone cannot and is not intended to generate any diagnostic conclusion.

When used in combination with other markers, this product can be used in one or more of the following functions:

- To aid in the differential diagnosis of hematologically abnormal patients suspected of having hematopoietic neoplasm and to monitor patients with known hematopoietic neoplasm.

See following references :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

SAMPLES

Venous blood must be taken using sterile tubes containing an EDTA salt as the anticoagulant.

The samples should be kept at room temperature (18 – 25°C) and not shaken. The samples should be homogenized by gentle agitation prior to taking the test sample.

The samples must be analyzed within 24 hours of venipuncture.

CONCENTRATION

See lot specific Certificate of Analysis at www.beckman.com.

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Do not use the reagent beyond the expiry date.
2. Do not freeze.
3. Let it come to room temperature (18 – 25°C) before use.
4. Minimize exposure to light.
5. Avoid microbial contamination of the reagents, or false results may occur.

6. Antibody solutions containing sodium azide (NaN_3) should be handled with care. Do not take internally and avoid all contact with the skin, mucosa and eyes.
Moreover, in an acid medium, sodium azide can form the potentially dangerous hydrazoic acid. If it needs to be disposed of, it is recommended that the reagent be diluted in a large volume of water before pouring it into the drainage system so as to avoid the accumulation of sodium azide in metal pipes and to prevent the risk of explosion.
7. All blood samples must be considered as potentially infectious and must be handled with care (in particular: the wearing of protective gloves, gowns and goggles).
8. Never pipet by mouth, and avoid all contact of the samples with the skin, mucosa and eyes.
9. Blood tubes and disposable material used for handling should be disposed of in ad hoc containers intended for incineration.
10. Reagents and waste should be eliminated according to local requirements.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous



Safety Data Sheet is available at beckman.com/techdocs

STORAGE AND STABILITY

This reagent must be kept at between 2 and 8°C and protected from light, before and after the vial has been opened.

Closed vial shelf life per stability study: 730 days.

Stability of opened vial: the reagent is stable for 180 days.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of the reagents may indicate deterioration and the reagent should not be used.

For additional information, or if damaged product is received, call Beckman Coulter Customer Service at 800-742-2345 (USA or Canada) or contact your local Beckman Coulter Representative.

CONTENTS

Sodium azide preservative may form explosive compounds in metal drain lines. See NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76).

To avoid the possible build-up of azide compounds, flush wastepipes with water after the disposal of undiluted reagent. Sodium azide disposal must be in accordance with appropriate local regulations.

MATERIALS NEEDED BUT NOT SUPPLIED WITH KIT:

- Sampling tubes and material necessary for sampling.
- Automatic pipettes with disposable tips for 10, 100 and 500 μL .
- Plastic haemolysis tubes.
- To obtain optimal results, either following reagents are recommended (follow related specific procedure):
 - IntraPrep Fixation/Permeabilization reagent (Ref A07802 or A07803)
 - PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit), for Intra-& Extra-Cellular Staining Preparation (Ref B31167 or B31168)
- Leucocyte fixation reagent. For example : IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800).
- Isotype control APC : IOTest reagent (Ref. IM2475).
- Buffer (PBS: 0.01 M sodium phosphate; 0.145 M sodium chloride; pH 7.2).
- Centrifuge.
- Automatic agitator (Vortex type).
- Flow cytometer.

PROCEDURE WITH PERFIX-NC REAGENT

Below is the recommended procedure to use with the PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit) for Intra-& Extra-Cellular Staining Preparation (Ref B31167 or B31168).

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. IM2475).

Kit reagent preparation

PerFix-nc Buffer 1 and 2 Reagents

No reconstitution is necessary. Both reagents may be used directly from the vial.

PerFix-nc Buffer 3 Reagent preparation

Prepare extemporaneously the Final 1X Reagent.

Dilute the 10X Concentrated PerFix-nc Buffer 3 (Final 10X Solution) into deionized water: 1 volume of Buffer 3 with 9 volumes of water. Mix well before use. We recommend preparing only the volume of Final 1X Reagent necessary for the experiments of the day.

1. Pipet 50 μL of blood sample into the bottom of each appropriately labeled tube. Avoid putting some blood on the side of the tube; otherwise it will not be appropriately treated.
2. Pipet 5 or 25 μL of the Fixative Reagent to each tube depending if a low or high fixation is required (refer to PerFix-nc instruction for use for details on low/high fixation protocols).

3. Vortex immediately and incubate for 15 min at room temperature (18 – 25°C).
4. Vortex again the fixed blood and add 300 µL of the Permeabilizing Reagent to each tube; vortex immediately.
5. Add immediately to each tube 10 µL of the fluorochrome-conjugated antibodies against intracellular epitopes and surface molecules (alternatively, the antibodies can be pre-mixed into the Permeabilizing Reagent and added altogether at the end of the fixation step).
6. Vortex immediately and incubate for 15 - 30 min at room temperature.
7. Add 3 mL of the Final 1X Reagent (prepared from the 10X concentrated Final Solution) to each tube; vortex immediately; the sample is now ready for analysis on a flow cytometer.

NOTE: The preparations can be stored for 24 hours prior to cytometric analysis, it is advisable to store them at 2-8°C and protected from light.

PROCEDURE WITH INTRAPREP REAGENT

Below the recommended procedure to use with IntraPrep Fixation/Permeabilization reagent (Ref. A07802 or A07803).

For each sample analyzed, in addition to the test tube, one control tube can be added in which the cells are mixed in the presence of the isotype control (Ref. IM2475).

For a blood sample, optimal staining is obtained using a number of leucocytes between 3 and 10 x 10³ cells / µL. If the leucocyte concentration is greater than 10 x 10³ cells / µL, dilute (11).

1. Add 50 µL of blood sampled into EDTA to each tube.
2. Add to each tube 100 µL of IntraPrep reagent 1 (Fixation)
3. Vortex the tubes vigorously for 3 to 5 seconds.
4. Incubate for 15 minutes at room temperature (18 – 25°C) protected from light.
5. Add 4 mL of PBS to each tube.
6. Centrifuge for 5 minutes at 300 x g at room temperature. Remove the supernatant by aspiration.
7. Add to each tube 100 µL of IntraPrep reagent 2 (Permeabilization). Let mix by diffusion. DO NOT VORTEX.
8. Incubate for 5 minutes at room temperature without shaking.
9. Shake the tubes carefully and manually for 2 to 3 seconds.
10. Add 10 µL of specific IOTest conjugated antibody to each test tube and if necessary, 10 µL of the isotype control to each control tube.
11. Incubate for 15 to 20 minutes at room temperature (18 – 25°C), protected from light.
12. Add 4 mL of PBS and centrifuge at 300 x g for 5 minutes at room temperature.
13. Remove the supernatant by aspiration and resuspend the cell pellet in 0.5 to 1 mL of IOTest 3 Fixative Solution (Ref. A07800) at its working concentration (1X).
14. The preparations are ready for cytometric analysis.

NOTE: If the preparations are to be stored for more than 2 hours prior to cytometric analysis, it is advisable to store them at 2-8°C and protected from light. The preparations thus stored do not keep, however, for more than 24 hours.

EXPECTED VALUES

In our laboratories, the whole blood samples of 25 apparently healthy donors were treated using the reagent described above. The results obtained for the count of the positive events of interest with this reagent are given in the table below :

PerFix-nc Lysing System:

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	10.98	4.13	37.60

IntraPrep Lysing System:

Positive Target	Number	Mean (%)	SD	CV (%)
Lymphocytes	25	10.02	4.03	40.19

These values are intended to be representative only. Each laboratory should establish its own expected values from the local population of normal donors.

PERFORMANCE

Performance data are obtained using the procedure described above on less than 24 hour-old blood samples previously collected in sterile tubes with EDTA salt as anticoagulant. Analysis is performed within 2 hours following immunostaining.

SPECIFICITY

The CD79a molecule is part of the CD79a / CD79b disulphide-linked heterodimer, non-covalently bound to surface immunoglobulins to form B cell receptors (BCR) (12). The expression of CD79a appears early in the ontogeny of B cells and its localization at the pro-B stage is therefore cytoplasmic. Later on, the CD79a forms part of the BCR. Its membrane expression persists up to the plasmocytic stage, the stage at which its localization once again becomes cytoplasmic (13).

MAb HM47 reacts with an intracytoplasmic epitope of the CD79a molecule (13). It was assigned to CD79a at the 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Boston, USA, in 1993 (WS Code: cb017, Section B) (13).

PRECISION

The percent positive values were determined using Whole Blood. Each sample was run 4 times, twice a day for 1 day on 2 instruments using 2 lots of CD79a-APC Monoclonal Antibody Reagents. Measurements (% positive) were made on Navios flow cytometer. Analysis was conducted based on the CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods.

Our acceptance criteria is dependent on the number of positive events measured for each population:

- If positive event <1500, CV <15%
- If positive event >1500, CV <10%

PerFix-nc Lysing System:

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 1026							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.79	0.95	3.88	1.03	1.73	2.97	4.13
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep Lysing System:

Lymphocytes							
Number of positive events (Mean) = 880							
	Inter-Operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-run	Intra-run	Total
CV (%)	1.24	2.36	4.79	1.22	2.36	3.98	5.48
RESULTS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURACY

The accuracy of CD79a-APC was assessed by comparing the results with a reference reagent as the predicate on a set of whole blood samples run on a Navios flow cytometer. The bias between test and reference reagent was determined based on the difference between test results. If the bias is within the allowable error range or the p-value indicates no significant difference (> 0.05), then test results for the two reagents are considered as equivalent.

The results obtained are summarized in the following table below:

PerFix-nc Lysing System:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	0.32	<3	0.005	PASS

IntraPrep Lysing System:

Number of donors = 25				
Positive Target	Mean Δ	Δ % Cell criteria	p-value	RESULTS
Lymphocytes	0.09	<3	0.659	PASS

LIMIT OF BLANK AND LIMIT OF DETECTION

A study was conducted in accordance with CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. The Limit of Detection (LOD) is the lowest concentration of analyte that can be consistently detected. Results obtained are summarized in the following table:

PerFix-nc Lysing System:

Positive Target	Limit of Blank (cell/ μ L)	Limit of Detection (cell/ μ L)
Lymphocytes	0	4

IntraPrep Lysing System:

Positive Target	Limit of Blank (cell/ μ L)	Limit of Detection (cell/ μ L)
Lymphocytes	1	2

LIMITATIONS

1. Flow cytometry may produce false results if the cytometer has not been aligned perfectly, if fluorescence leaks have not been correctly compensated for and if the regions have not been carefully positioned.
2. Accurate and reproducible results will be obtained as long as the procedures used are in accordance with the technical insert leaflet and compatible with good laboratory practices.
3. The conjugated antibody of this reagent is calibrated so as to offer the best specific signal/non-specific signal ratio. Therefore, it is important to adhere to the reagent volume/sample volume ratio in every test.
4. In the case of a hyperleucocytosis, dilute the blood in PBS so as to obtain a value of approximately 5×10^9 leucocytes/L (11).
5. In certain disease states, such as severe renal failure or haemoglobinopathies, lysis of red cells may be slow, incomplete or even impossible. In this case, it is recommended to isolate mononucleated cells using a density gradient (Ficoll, for example) prior to staining (14).
6. In patients treated with anti-human monoclonal antibody therapies, detection of the specific targeted antigens may be diminished or absent due to partial or complete blocking by the therapeutic antibody.
7. The CD79a-APC results should be interpreted in light of the total clinical presentation of the patient, including: symptoms, clinical history, data from additional tests, and other appropriate information.

See the Appendix for examples and references.

TRADEMARKS

Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

ADDITIONAL INFORMATION

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with identical regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

The Summary of Safety and Performance is available from the EUDAMED database: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISION HISTORY

REVISION AC:	Release date : October 2019
REVISION	Release Date
AW	February 2022
Updates to comply with the Beckman Coulter Global labelling Policy and according to IVD-R (EU)2017/746 requirements:	
Added sections	BSI 2797 Number, Intended User, Clinical Relevance, Concentration, Precision, Accuracy, Limit of blank and limit of detection, Additional Information, Revision History.
Added information	See sections Limitations
Phrasing or typographic updates	See sections Procedure, Performance, Limitations, Warning and Precautions, Storage and Stability.
Removed sections	Example of clinical applications, Reagents, Intra-laboratory reproducibility, Linearity
Updated sections	Intended Use, GHS Hazard Classification, Evidence of deterioration, Procedure, Appendix.
REVISION	Release Date
AX	
Updated sections	Add Kazakh
Updated sections	Storage and stability

Symbols Key

Glossary of Symbols is available at beckman.com/techdocs (document number B60062)

	Spécifications
Spécificité	CD79a
Clone	HM47
Hybridome	NS1 x balb/c
Immunogène	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobuline	IgG1
Espèce	Souris
Purification	Chromatographie d'affinité
Fluorochrome	Allophycocyanin (APC)
Rapport molaire	APC/Ig : 0,5 - 1,5
Excitation λ	633/638 nm
Pic d'émission	660 nm
Solution tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA et 0,1 % NaN ₃

IOTest

Anticorps conjugué

CD79a-APC

[REF] B36287 100 tests ; 1 mL, 10 µL / test

Pour une utilisation en Diagnostic *In Vitro*

UTILISATION

Cet anticorps conjugué-fluorochrome permet l'identification qualitative non automatisée des populations de cellules exprimant l'antigène CD79a présent dans les échantillons biologiques humains à l'aide d'une cytométrie en flux (voir la section « Échantillons » ci-dessous).

PRINCIPE

Ce test est fondé sur la capacité d'anticorps monoclonaux spécifiques de se lier à des déterminants antigéniques exprimés par les leucocytes.

La perméabilité est induite dans les membranes cytoplasmiques des leucocytes pour la mise en évidence des déterminants antigéniques intracellulaires au moyen d'anticorps monoclonaux fluorescents. Les leucocytes sont ensuite analysés par cytométrie en flux.

Le cytomètre en flux mesure la diffusion de la lumière et la fluorescence des cellules. Il rend possible la délimitation de la population d'intérêt au sein de la fenêtre électronique définie sur un histogramme, qui met en corrélation la diffusion orthogonale de la lumière (diffusion latérale ou SS) et la diffusion de la lumière en angle étroit (dispersion avant ou FS). D'autres histogrammes combinant deux des différents paramètres disponibles sur le cytomètre peuvent être utilisés comme supports dans la phase de gating en fonction de l'application choisie par l'utilisateur.

La fluorescence des cellules délimitées est analysée de manière à distinguer les événements colorés positifs de ceux qui ne le sont pas. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'événements positifs par rapport à tous les événements acquis grâce à la méthode de gating.

UTILISATEUR PRÉVU

Ce produit est destiné à un usage professionnel en laboratoire.

PERTINENCE CLINIQUE

Le CD79a-APC est un anticorps CD79a utilisé pour identifier et caractériser les cellules exprimant l'antigène CD79a par cytométrie en flux. Ce produit seul ne peut pas et n'est pas destiné à générer une quelconque conclusion diagnostique.

Lorsqu'il est utilisé conjointement avec d'autres marqueurs, ce produit peut être utilisé pour l'une ou plusieurs des fonctions suivantes :

- Aider au diagnostic différentiel des patients ayant une hématologie anormale et suspectés d'être atteints d'un néoplasme hématopoïétique et surveiller les patients atteints d'un néoplasme hématopoïétique connu.

Voir les références suivantes :

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÉCHANTILLONS

Le sang veineux doit être prélevé avec des tubes stériles contenant un sel EDTA comme anticoagulant.

Les échantillons doivent être conservés à température ambiante (18–25 °C) et ne doivent pas être agités. Les échantillons doivent être homogénéisés par agitation douce avant de prélever l'échantillon de test.

Les échantillons doivent être analysés dans les 24 heures qui suivent la ponction veineuse.

CONCENTRATION

Voir le certificat d'analyse du lot spécifique sur www.beckman.com.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption.
2. Ne pas congeler.
3. Laisser le réactif passer à la température ambiante (18–25 °C) avant de l'utiliser.
4. Minimiser l'exposition à la lumière.
5. Éviter la contamination microbienne des réactifs, ou des résultats erronés peuvent se produire.
6. Les solutions d'anticorps contenant de l'azide de sodium (NaN₃) doivent être manipulées avec précautions. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau, les muqueuses et les yeux.

En outre, dans un milieu acide, l'azide de sodium peut former le potentiellement dangereux acide hydrazoïque. S'il doit être éliminé, il est recommandé de diluer le réactif dans un grand volume d'eau avant de le verser dans le système de drainage afin d'éviter l'accumulation d'azide de sodium dans les tubes métalliques et de prévenir le risque d'explosion.

7. Tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés avec soin (en particulier : port de gants, de blouses et de lunettes de protection).
8. Ne jamais pipetter avec la bouche et éviter tout contact des échantillons avec la peau, les muqueuses et les yeux.
9. Les tubes de prélèvement sanguin et les matériaux jetables utilisés pour la manipulation doivent être éliminés dans des conteneurs appropriés prévus pour incinération.
10. Les réactifs et les déchets doivent être éliminés conformément aux exigences locales.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux



La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse beckman.com/techdocs

CONSERVATION ET STABILITÉ

Ce réactif doit être conservé entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière, avant et après l'ouverture du flacon.

Durée de conservation du flacon fermé selon l'étude de stabilité : 730 jours.

Stabilité du flacon ouvert : le réactif est stable pendant 180 jours.

PREUVE DE DÉTÉRIORATION

Tout changement de l'apparence physique des réactifs peut indiquer une détérioration et le réactif ne doit pas être utilisé.

Pour plus de renseignements ou si un produit défectueux est livré, appeler le service client de Beckman Coulter au 800-742-2345 (USA ou Canada), ou votre représentant de Beckman Coulter local.

CONTENU

Les agents de conservation à base d'azide de sodium peuvent former des composés explosifs dans les conduites d'évacuation métalliques. Voir le bulletin NIOSH : Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Dangers d'explosion de l'azide).

Pour éviter l'accumulation potentielle des composés d'azide, rincer les tuyaux d'évacuation à l'eau après l'élimination de réactifs non dilués. L'élimination de l'azide de sodium doit se faire conformément aux réglementations locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC CE COFFRET:

- Les tubes d'échantillonnage et le matériel nécessaires pour l'échantillonnage.
- Pipettes automatiques aux embouts jetables pour 10, 100 et 500 µL.
- Tubes d'hémolyse en plastique.
- Pour obtenir des résultats optimaux, les réactifs suivants sont recommandés (suivez les procédures spécifiques)
 - Réactif IntraPrep Fixation/Permeabilization (réf. A07802 ou A07803)
 - PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit), pour préparation de marquage intra et extra cellulaire (réf. B31167 ou B31168)
- Réactif de fixation de leucocyte. Par exemple : Solution fixative IOTest 3 (Réf. A07800).
- Contrôle d'isotype APC : Réactif IOTest (Réf. IM2475).
- Tampon (PBS : 0,01 M phosphate de sodium ; 0,145 M chlorure de sodium ; pH 7,2).
- Centrifugeuse.
- Agitateur automatique (type vortex).
- Cytomètre en flux.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF PERFIX-NC

Ci-dessous figure la procédure recommandée à utiliser avec le kit PerFix-nc (kit de dosage sans centrifugeuse) pour la préparation de coloration intra et extra-cellulaire (réf. B31167 ou B31168).

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. IM2475).

PRÉPARATION DU KIT RÉACTIF

Réactifs PerFix-nc tampon 1 et 2

Aucune reconstitution n'est nécessaire. Les deux réactifs peuvent être utilisés directement à partir du flacon.

Préparation du réactif tampon PerFix-nc 3

Préparer le réactif Final 1X extemporanément.

Diluer le PerFix-nc tampon 3 concentré 10X (Final 10X Solution) dans de l'eau désionisée : 1 volume de tampon 3 avec 9 volumes d'eau. Bien mélanger avant l'emploi. Nous recommandons de préparer uniquement le volume de réactif Final 1X nécessaire pour les expériences de la journée.

1. Pipetter 50 µL d'échantillon de sang au fond de chaque tube étiqueté. Éviter de mettre du sang sur le côté du tube, sinon il ne sera pas traité de façon appropriée.
2. Pipeter 5 ou 25 µL du réactif de fixation dans chaque tube, selon si une fixation faible ou élevée est requise (consulter le mode d'emploi du PerFix-nc pour plus de détails sur les protocoles de fixation faible/élevée).
3. Vortexer immédiatement et incuber pendant 15 minutes à température ambiante (de 18 à 25 °C).

4. Vortexer le sang fixe et ajouter 300 µL de réactif perméabilisant dans chaque tube ; vortexer immédiatement.
5. Ajouter immédiatement à chaque tube 10 µL d'anticorps conjugués au fluorochrome contre les épitopes intracellulaires et les molécules de surface (alternativement, les anticorps peuvent être pré-mélangés au réactif perméabilisant et ajoutés à la fin de l'étape de fixation).
6. Vortexer immédiatement et laisser incuber pendant 15 - 30 min à température ambiante.
7. Ajouter 3 mL de réactif Final 1X (préparé à partir de la solution concentrée Final 10X) dans chaque tube ; vortexer immédiatement ; l'échantillon est maintenant prêt pour l'analyse en cytomètre de flux.

REMARQUE : Les préparations peuvent être stockées pendant 24 heures avant la cytométrie, il est conseillé de les conserver à 2-8 °C et à l'abri de la lumière.

PROCÉDURE AVEC RÉACTIF INTRAPREP

Ci-dessous, la procédure recommandée pour l'utilisation du réactif IntraPrep Fixation/ Permeabilization (réf. A07802 ou A07803).

Pour chaque échantillon analysé, en plus du tube de test, un tube de contrôle peut être ajouté dans lequel les cellules sont mélangées en présence du contrôle isotypique (Réf. IM2475).

Pour un échantillon de sang, un marquage optimal est obtenu en utilisant un nombre de leucocytes entre 3 et 10 x 10³ cellules/µL. Si la concentration leucocytaire est supérieure à 10 x 10³ cellules/µL, diluer (11).

1. Ajouter 50 µL de sang échantillonné dans l'EDTA dans chaque tube.
2. Ajouter 100 µL de réactif IntraPrep 1 (fixation) dans chaque tube.
3. Passer les tubes au vortex vigoureusement pendant 3 à 5 secondes.
4. Incuber pendant 15 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
5. Ajouter 4 mL de PBS dans chaque tube.
6. Centrifuger pendant 5 minutes à 300 x g à température ambiante. Retirer le surnageant par aspiration.
7. Ajouter 100 µL de réactif IntraPrep 2 (perméabilisation) dans chaque tube. Laisser mélanger par diffusion. NE PAS PASSER AU VORTEX.
8. Incuber pendant 5 minutes à température ambiante sans agitation.
9. Agiter les tubes manuellement et avec précaution pendant 2 à 3 secondes.
10. Ajouter 10 µL d'anticorps conjugué spécifique IOTest à chaque tube de test et si nécessaire, 10 µL de contrôle isotypique dans chaque tube de contrôle.
11. Incuber pendant 15 à 20 minutes à température ambiante (18–25 °C), à l'abri de la lumière.
12. Ajouter 4 mL de PBS et centrifuger à 300 x g pendant 5 minutes à température ambiante.
13. Éliminer le surnageant par aspiration et remettre le culot en suspension dans 0,5 à 1 mL de solution de fixation IOTest 3 (Réf. A07800) à sa concentration de travail (1X).
14. Les préparations sont prêtes pour l'analyse cytométrique.

Nota Bene : Si les préparations doivent être conserver plus de 2 heures avant analyse au cytomètre, il est recommandé de les placer entre 2 et 8 °C et à l'abri de la lumière. Les tubes ainsi stockés ne se conservent pas plus de 24 heures.

VALEURS ATTENDUES

Dans nos laboratoires, les échantillons de sang total de 25 donneurs apparemment sains ont été traités à l'aide du réactif décrit ci-dessus. Les résultats obtenus pour le compte des événements positifs d'intérêt pour ce réactif sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Système de lyse PerFix-nc :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	10,98	4,13	37,60

Système de lyse IntraPrep :

Cible positive	Nombre	Moyenne (%)	ET (Écart type)	CV (%)
Lymphocytes	25	10,02	4,03	40,19

Ces valeurs sont censées être uniquement représentatives. Chaque laboratoire doit établir ses valeurs attendues à partir d'une population locale de donneurs normaux.

PERFORMANCE

Les données de performance sont obtenues à l'aide de la procédure décrite ci-dessus sur des échantillons de sang de moins de 24 heures préalablement collectés dans des tubes stériles contenant du sel EDTA comme anticoagulant. L'analyse est effectuée dans les 2 heures suivant l'immunocoloration.

SPÉCIFICITÉ

La molécule CD79a fait partie de l'hétérodimère CD79a / CD79b lié par pont disulfure et associé de manière non covalente avec les immunoglobulines de surface pour former le récepteur des cellules B (BCR) (12). L'expression de CD79a apparaît de façon précoce dans l'ontogenie des cellules B et sa localisation au stade pro-B est alors cytoplasmique. Plus tardivement, la molécule CD79a entre dans la constitution du BCR. Son expression membranaire persiste jusqu'au stade plasmocytaire, stade à partir duquel sa localisation redevient cytoplasmique (13).

L'AcM HM47 réagit avec un épitope intra-cytoplasmique de la molécule CD79a (13). Cet anticorps a été assigné au CD79a au cours du 5ème HLDA Workshop sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains, de Boston, Etats-Unis, en 1993 (Code WS: cB017, Section B) (13).

PRÉCISION

Les valeurs de percentile positives ont été déterminées à l'aide de sang total. Chaque échantillon a été analysé 4 fois, deux fois par jour pendant 1 jour sur 2 instruments à l'aide de 2 lots de réactifs d'anticorps monoclonal CD79a-APC. Les mesures (% positif) ont été effectuées sur le cytomètre en flux Navios. L'analyse a été conduite conformément au document CLSI Méthode EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Évaluation de la performance de précision des méthodes de mesures quantitatives).

Notre critère d'acceptation est dépendant du nombre d'événements positifs mesurés pour chaque population :

- Si événement positif < 1 500, CV < 15 %
- Si événement positif > 1 500, CV < 10 %

Système de lyse PerFix-nc :

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 1026							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Système de lyse IntraPrep :

Lymphocytes							
Nombre d'événements positifs (Moyenne) = 880							
	Inter-opérateur	Inter-cytomètre	Intra-lot	Inter-lot	Inter-analyse	Intra-analyse	Total
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RÉSULTATS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUDE

L'exactitude de CD79a-APC a été évaluée en comparant les résultats avec un réactif de référence comme prédictat sur un ensemble d'échantillons de sang total analysé sur un cytomètre en flux Navios. L'écart systématique entre le test et le réactif de référence a été déterminé en fonction de la différence entre les résultats du test. Si l'écart systématique se situe dans la plage d'erreurs autorisée ou que la valeur p n'indique aucune différence significative (> 0,05), alors les résultats du test pour les deux réactifs sont considérés comme équivalents.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Système de lyse PerFix-nc :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	0,32	<3	0,005	PASS

Système de lyse IntraPrep :

Nombre de donneurs = 25				
Cible positive	Moyenne Δ	Critères de cellules Δ %	Valeur-p	RÉSULTATS
Lymphocytes	0,09	<3	0,659	PASS

LIMITE DU BLANC ET LIMITE DE DÉTECTION

Une étude a été conduite conformément au document CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Évaluation des capacités de détection des procédures de mesures biologiques cliniques). La limite de détection (LOD) est la concentration la plus basse d'analyte qui peut être systématiquement détectée. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Système de lyse PerFix-nc :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	0	4

Système de lyse IntraPrep :

Positive Target	Limite du blanc (cellules/µL)	Limite de détection (cellules/µL)
Lymphocytes	1	2

LIMITES

1. La cytométrie en flux peut produire des résultats erronés si le cytomètre n'a pas été parfaitement aligné, si les fuites de fluorescence n'ont pas été correctement compensées et si les régions n'ont pas été soigneusement positionnées.
2. Des résultats précis et reproductibles seront obtenus tant que les procédures utilisées sont en conformité avec la notice technique et compatibles avec les bonnes pratiques de laboratoire.
3. L'anticorps conjugué de ce réactif est étalonné de manière à offrir le meilleur ratio de signal spécifique/signal non spécifique. Par conséquent, il est important de respecter le ratio de volume de réactif/volume d'échantillon à chaque test.
4. En cas d'hyperleucocytose, diluer le sang dans du PBS de façon à obtenir une valeur d'approximativement 5×10^9 leucocytes/L (11).
5. Dans certains états pathologiques, tels qu'une grave insuffisance rénale ou une hémoglobinopathie, la lyse des globules rouges peut être lente, incomplète ou même impossible. Dans ce cas, il est recommandé d'isoler les cellules mononucléées à l'aide d'un gradient de densité (Ficoll, par exemple) avant la coloration (14).
6. Chez les patients traités par thérapie d'anticorps monoclonal anti-humain, la détection d'antigènes ciblés spécifiques peut être diminuée ou absente en raison d'un blocage partiel ou total par l'anticorps thérapeutique.
7. Les résultats de CD79a-APC doivent être interprétés à la lumière du tableau clinique complet du patient, y compris : les symptômes, l'anamnèse, les résultats de tests supplémentaires et toute autre information appropriée.

Voir l'annexe pour des exemples et des références.

MARQUES

Beckman Coulter, le logo stylisé et les marques des produits et des services Beckman Coulter mentionnées ici sont des marques ou des marques déposées de Beckman Coulter, Inc. aux États-Unis et dans d'autres pays.

INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour un patient/utilisateur/tiers de l'Union européenne et des pays ayant le même régime réglementaire (Règlement 2017/746/UE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) ; si, lors de l'utilisation de ce dispositif ou suite à son utilisation, un incident important se produit, veuillez le rapporter au fabricant et/ou à son représentant autorisé et à l'autorité nationale de votre pays.

Le Summary of Safety and Performance (Résumé de sécurité et de performance) est disponible sur la base de données EUDAMED : ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

RÉVISION AC :	Date de publication : octobre 2019
RÉVISION	Date de publication
AW	Février 2022
Mises à jour pour se conformer aux exigences de la politique d'étiquetage générale de Beckman Coulter et aux exigences IVD-R (UE)2017/746 :	
Ajout de sections	Numéro BSI 2797, Utilisateur prévu, Pertinence clinique, Concentration, Exactitude, Précision, Limite du blanc et limite de détection, Informations supplémentaires, Historique de révisions.
Ajout d'informations	Voir les sections Limites
Mises à jour typographiques et de formulations	Voir les sections Procédure, Performance, Limites, Avertissement et précautions, Conservation et stabilité.
Suppression de sections	Exemple d'applications cliniques, réactifs, reproductibilité intra-laboratoire, linéarité
Sections mises à jour	Utilisation, Classification des risques SGH, Preuve de détérioration, Procédure, Annexe.
RÉVISION	Date de publication
AX	
Sections mises à jour	Ajouter le kazakh
Sections mises à jour	Conservation et stabilité

Légende des symboles

Un glossaire des symboles est disponible sur beckmancoulter.com/techdocs (document numéro B60062)

	Spezifikationen
Spezifität	CD79a
Klon	HM47
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunglobulin	IgG1
Spezies	Maus
Aufreinigung	Affinitätschromatografie
Fluorochrom	Allophycocyanin (APC)
Molverhältnis	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ-Anregung	633/638 nm
Emissionspeak	660 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA und 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugierter Antikörper

CD79a-APC

[REF] B36287 100 Tests ; 1 mL, 10 µL / test

Zur Verwendung als *In vitro*-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Dieser mit einem Fluorochrom konjugierte Antikörper ermöglicht mithilfe der Durchflusszytometrie eine qualitative und nicht automatisierte Identifikation von Zellpopulationen, die das CD79a-Antigen exprimieren, das in biologischen Proben menschlicher Herkunft vorhanden ist (siehe den Abschnitt „Proben“ unten).

PRINZIP

Dieser Test basiert auf der Fähigkeit bestimmter monoklonaler Antikörper, an die durch Leukozyten exprimierten antigenen Determinanten zu binden.

Die Durchlässigkeit wird in den zytoplasmatischen membranen der Leukozyten induziert, um die intrazellulären antigenen Determinanten mithilfe monoklonaler fluoreszierender Antikörper nachzuweisen. Die Leukozyten werden anschließend mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Das Durchflusszytometer misst die Lichtstreuung und die Fluoreszenz der Zellen. Es ermöglicht die Abgrenzung der gewünschten Population innerhalb des auf einem Histogramm definierten elektronischen Fensters, welches die orthogonale Lichtstreuung (Seitwärtsstreuung, SW) und die Streuung des Lichts im flachen Winkel (Vorwärtsstreuung, VW) in Beziehung zueinander setzt. Andere Histogramme, die zwei der auf dem Zytometer verfügbaren Parameter kombinieren, können zur Unterstützung beim Gating eingesetzt werden, je nachdem welche Anwendung der Benutzer ausgewählt hat.

Die Fluoreszenz der einzelnen Zellen wird analysiert, um die positiv angefärbten Ereignisse von den nicht angefärbten zu unterscheiden. Die Ergebnisse werden als Prozentsatz positiver Ereignisse relativ zu allen durch das Gating erfassten Ereignissen angegeben.

VORGESEHENER BENUTZER

Dieses Produkt ist für den Einsatz durch Laborfachkräfte vorgesehen.

KLINISCHE RELEVANZ

CD79a-APC ist ein CD79a-Antikörper zur durchflusszytometrischen Identifikation und Charakterisierung von Zellen, die das CD79a-Antigen exprimieren. Es ist weder möglich noch vorgesehen, alleine anhand dieses Produkts zu einer diagnostischen Schlussfolgerung zu kommen.

Bei Verwendung in Verbindung mit anderen Markern kann dieses Produkt für einen oder mehrere der folgenden Zwecke eingesetzt werden:

- Als Hilfsmittel zur Differenzialdiagnose von hämatologisch abnormalen Patienten mit Verdacht auf ein hämatopoietisches Neoplasma und zur Überwachung von Patienten mit bestätigtem hämatopoietischem Neoplasma.

Siehe die nachstehenden Literaturhinweise:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBEN

Venöses Blut muss mit sterilen Röhrchen entnommen werden, die ein EDTA-Salz als Antikoagulanz enthalten.

Die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) aufbewahren und nicht schütteln. Die Proben vor Entnahme der Testprobe durch vorsichtiges Schütteln homogenisieren.

Die Proben müssen innerhalb von 24 Stunden analysiert werden.

KONZENTRATION

Siehe das chargenspezifische Analysezertifikat unter www.beckman.com.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Das Reagenz nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.
2. Nicht einfrieren.
3. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18–25 °C) bringen.
4. Vor Licht schützen.
5. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden, damit kein falsches Ergebnis erzielt wird.
6. Antikörperlösungen, die Natriumazid (NaN₃) enthalten, vorsichtig handhaben. Nicht einnehmen und Berührungen mit Haut, Schleimhäuten und Augen vermeiden.

Zudem kann Natriumazid in einem sauren Medium zur Bildung potenziell gefährlicher Stickstoffwasserstoffsäure führen. Zur Entsorgung des Reagenzes wird empfohlen, das Reagenz mit viel Wasser zu verdünnen, bevor es in das Abwassersystem gegossen wird, um einer Ansammlung von Natriumazid in den Metallrohren und dem Risiko einer Explosion vorzubeugen.

7. Blutproben sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden (insbesondere durch Tragen von Schutzhandschuhen, -kittel und -brille).
8. Niemals mit dem Mund pipettieren und jeglichen Kontakt der Proben mit Haut, Schleimhaut und Augen vermeiden.
9. Blutröhrchen und Einwegmaterial, das zur Handhabung verwendet wird, müssen in dafür vorgesehenen, für die Verbrennung bestimmten Behältern entsorgt werden.
10. Reagenzien und Abfälle sind entsprechend den örtlichen Anforderungen zu entsorgen.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf beckman.com/techdocs verfügbar.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Dieses Reagenz muss vor und nach dem Öffnen des Fläschchens lichtgeschützt zwischen 2 und 8 °C gelagert werden.

Haltbarkeit der geschlossenen Durchstechflasche gemäß Stabilitätsstudie: 730 Tage.

Stabilität geöffneter Fläschchen: Das Reagenz ist 180 Tage lang stabil.

VERFALLSANZEICHEN

Ein verändertes Aussehen der Reagenzien kann ein Verfallsanzeichen sein. Entsprechende Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.

Wenn Sie weitere Informationen wünschen oder falls das Produkt beschädigt bei Ihnen eintrifft, setzen Sie sich (innerhalb der USA und Kanada) unter der Rufnummer 800-742-2345 mit dem Kundendienst von Beckman Coulter bzw. außerhalb dieser Länder mit dem für Sie zuständigen Beckman Coulter-Mitarbeiter in Verbindung.

INHALT

Natriumazid als Konservierungsmittel kann in metallischen Abflussleitungen explosive Verbindungen bilden. Siehe NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (NIOSH-Bulletin: Gefahr durch explosive Azide).

Um eine mögliche Akkumulation von Azidverbindungen zu vermeiden, die Abwasserrohre nach der Entsorgung von unverdünntem Reagenz mit Wasser spülen. Natriumazid muss entsprechend den örtlichen behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT IM KIT ENTHALTENE ARTIKEL:

- Probenahmeröhrchen und für die Probenahme benötigte Materialien.
- Automatische Pipetten mit Einwegspritzen für 10, 100 und 500 µL.
- Hämolyseröhrchen aus Kunststoff.
- Um optimale Ergebnisse zu erhalten, werden folgende Reagenzien empfohlen (befolgen Sie das entsprechende spezifische Verfahren):
IntraPrep Fixier-/Permeabilisationsreagenz (Ref. A07802 oder A07803)
PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit) für intra- und extrazelluläre Färbungsvorbereitung (Ref. B31167 oder B31168)
- Reagenz zur Leukozytenfixierung. Beispiel: IOTest 3-Fixierungslösung (Ref. A07800).
- Isotypkontrolle APC: IOTest-Reagenz (Ref. IM2475).
- Puffer (PBS: 0,01 M Natriumphosphat; 0,145 M Natriumchlorid; pH 7,2).
- Zentrifuge.
- Automatisches Mischgerät (Typ Vortex-Mischer).
- Durchflusszytometer.

VERFAHREN MIT PERFIX-NC-REAGENZ

Nachstehend ist das empfohlene Verfahren für die Anwendung des PerFix-nc-Kits (Assay-Kit ohne Zentrifuge) zur Vorbereitung der intra- und extrazellulären Färbung (Ref. B31167 oder B31168) beschrieben.

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhrchen verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. IM2475) gemischt werden.

VORBEREITUNG DER KIT-REAGENZIEN

PerFix-nc Pufferreagenzien 1 und 2

Es ist keine Rekonstitution erforderlich. Beide Reagenzien können direkt aus dem Fläschchen verwendet werden.

Reagenzenvorbereitung für PerFix-nc-Puffer 3

Bereiten Sie das Final 1X Reagenz gemäß Rezeptur von.

Verdünnen Sie den 10-fach konzentrierten PerFix-nc Puffer 3 (Final 10X Lösung) in deionisiertem Wasser: im Verhältnis 1:9 zwischen Puffer 3 und Wasser. Vor Gebrauch gut mischen. Es wird empfohlen, nur das für die Untersuchungen des jeweiligen Tages benötigte Volumen des Final 1X Reagenzes vorzubereiten.

1. 50 µL der Blutprobe in den Boden der entsprechend gekennzeichneten Röhrchen geben. Es sollte kein Blut auf die Seitenwände der Röhrchen gelangen, da sie sonst nicht entsprechend bearbeitet werden.
2. 5 or 25 µL des Fixierreagenzes in jedes Röhrchen pipettieren, je nachdem, ob eine schwache oder starke Fixierung erforderlich ist (siehe die Gebrauchsanweisung für PerFix-nc bezüglich Einzelheiten zu den Protokollen für schwache/starke Fixierung).

3. Sofort mischen und bei Zimmertemperatur (18 bis 25 °C) 15 Minuten inkubieren.
4. Das fixierte Blut erneut im Vortexer mischen und 300 µL des Permeabilisationsreagenzes in jedes Röhrchen geben; sofort im Vortexer mischen.
5. Unmittelbar danach 10 µL des fluorochrom-konjugierten Antikörpers gegen intrazelluläre Epitope und Oberflächenmoleküle in jedes Röhrchen geben (alternativ dazu können die Antikörper vorher mit dem Permeabilisationsreagenz gemischt und gemeinsam am Schluss des Fixierschrittes hinzugegeben werden).
6. Sofort im Vortexer mischen und 15 - 30 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubieren.
7. 3 mL des Final 1X Reagenzes (aus 10-fach konzentrierter Final-Lösung vorbereitet) in jedes Röhrchen geben; sofort im Vortexer mischen; die Probe nun für die Analyse auf einem Durchfluszytometer bereit.

HINWEIS: Die Präparate können bis zu 24 Stunden vor der zytometrischen Analyse gelagert werden. Dies sollte bei 2-8 °C und lichtgeschützt erfolgen.

VERFAHREN MIT INTRAPREP-REAGENZ

Nachfolgend finden Sie das empfohlene Verfahren für die Anwendung des IntraPrep Fixier-/Permeabilisationsreagenz (Ref. A07802 oder A07803).

Für jede analysierte Probe kann zusätzlich zum Teströhrchen noch ein Kontrollröhren verwendet werden, in dem die Zellen in Gegenwart der Isotypkontrolle (Ref. IM2475) gemischt werden.

Die optimale Färbung einer Blutprobe erhält man mit einer Leukozytenanzahl zwischen 3 und 10×10^3 Zellen/µL. Wenn die Leukozytenkonzentration größer als 10×10^3 Zellen/µL ist, muss verdünnt werden (11).

1. 50 µL des in EDTA entnommenen Bluts in jedes Röhrchen geben.
2. In jedes Röhrchen 100 µL des IntraPrep-Reagenzes 1 (Fixierung) geben.
3. Die Röhrchen 3 bis 5 Sekunden lang kräftig mit dem Vortex-Mischer mischen.
4. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
5. In jedes Röhrchen 4 mL PBS geben.
6. Bei 300 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren. Den Überstand absaugen.
7. In jedes Röhrchen 100 µL IntraPrep-Reagenz 2 (Permeabilisierung) geben. Durch Diffusion mischen lassen. NICHT MIT DEM VORTEX-MISCHER MISCHEN.
8. 5 Minuten lang bei Raumtemperatur ohne Schütteln inkubieren.
9. Die Röhrchen vorsichtig 2 bis 3 Sekunden lang manuell schütteln.
10. 10 µL des spezifischen konjugierten IOTest-Antikörpers in jedes Teströhrchen und bei Bedarf 10 µL der Isotypkontrolle in jedes Kontrollröhren geben.
11. Bei Raumtemperatur (18–25 °C) 15 bis 20 Minuten lang lichtgeschützt inkubieren.
12. 4 mL PBS hinzufügen und mit 300 x g 5 Minuten lang bei Raumtemperatur zentrifugieren.
13. Entfernen Sie den Überstand durch Absaugung und resuspendieren Sie das Zellpellet in 0,5 bis 1 mL IOTest 3-Fixierlösung (Ref. A07800) in der Anwendungskonzentration (1X).
14. Die Präparate sind gebrauchsfertig für die Verwendung zur zytometrischen Analyse.

HINWEIS: Wenn die Proben länger als 2 Stunden vor der Analyse aufbewahrt werden müssen, wird empfohlen, sie bei 2 – 8 °C und vor Lichteinstrahlung geschützt zu lagern. Die so gelagerten Röhrchen sind dennoch nicht länger als 24 Stunden stabil.

ERWARTETE WERTE

In unseren Laboren wurden die Vollblutproben von 25 scheinbar gesunden Spendern unter Verwendung des oben beschriebenen Reagenzes behandelt. Die Ergebnisse für die Anzahl der positiven Ereignisse von Interesse, die mit diesem Reagenz erzielt wurden, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

PerFix-nc-Lysesystem:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep-Lysesystem:

Positives Ziel	Nummer	Mittelwert (%)	SD	VK (%)
Lymphozyten	25	10,02	4,03	40,19

Die Werte dienen nur zu Veranschaulichungszwecken. Jedes Labor muss anhand der örtlichen Population normaler Spender eigene erwartete Werte festlegen.

LEISTUNG

Leistungsdaten werden unter Anwendung des oben beschriebenen Verfahrens mit weniger als 24 Stunden alten Blutproben ermittelt, die zuvor in sterile Röhrchen mit EDTA-Salz als Antikoagulanz entnommen wurden. Die Analyse erfolgt innerhalb von 2 Stunden nach der Immunfärbung.

SPEZIFITÄT

Das Molekül CD79a ist Teil des über Disulfidbrücken verbundenen CD79a / CD79b-Heterodimers, das auf nicht kovalente Weise mit den Oberflächenimmunglobulinen assoziiert ist und den Rezeptor der B-Zellen (BCR) bildet (12). Die Expression von CD79a tritt frühzeitig bei der Ontogenie der B-Zellen auf, die Lokalisierung im Pro-B-Stadium ist zytoplasmatisch. Später spielt das Molekül CD79a dann eine Rolle bei der Bildung des BCR. Seine Membranexpression dauert bis zum Plasmozytenstadium an. In diesem Stadium wird seine Lokalisierung erneut zytoplasmatisch (13).

Der mAk HM47 reagiert mit einem intrazytoplasmatischen Epitop des Moleküls CD79a (13). Dieser Antikörper wurde 1993 auf dem 5. HLDA Workshop über die Differenzierungsantigene der menschlichen Leukozyten in Boston, USA, dem Molekül CD79a zugeordnet (WS Code: cB017, Sektion B) (13).

PRÄZISION

Die prozentualen positiven Werte wurden unter Verwendung von Vollblut bestimmt. Jede Probe wurde zweimal täglich 1 Tag lang unter Verwendung von 2 Chargen der Reagenzien mit dem monoklonalen Antikörper CD79a-APC 4 Mal auf 2 Instrumenten analysiert. Messungen (% positiv) wurden mit

dem Navios-Durchflusszytometer vorgenommen. Die Analyse folgte den Vorgaben der CLSI-Methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Beurteilung der Präzisionsleistung von quantitativen Messmethoden).

Unsere Akzeptanzkriterien sind abhängig von der Anzahl an positiven Ereignissen, die für jede Population gemessen werden:

- Wenn positives Ereignis < 1 500, VK < 15 %
- Wenn positives Ereignis > 1 500, VK < 10 %

PerFix-nc-Lysesystem:

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 1026							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep-Lysesystem:

Lymphozyten							
Anzahl der positiven Ereignisse (Mittelwert) = 880							
	Zwischen Bedienern	Zwischen Durchflusszytometern	Innerhalb einer Charge	Zwischen Chargen	Zwischen Läufen	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
VK (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
ERGEBNISSE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit von CD79a-APC wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Referenzreagenz als Prädikat für einen Satz aus Vollblutproben bewertet, die auf einem Navios-Durchflusszytometer analysiert wurden. Die Abweichung zwischen Test- und Referenzreagenz wurde auf der Grundlage der Differenz zwischen Testergebnissen bestimmt. Sollte die Abweichung innerhalb des zulässigen Fehlerbereichs liegen oder der p-Wert keine signifikante Differenz (> 0,05) nahelegen, gelten die Testergebnisse für die beiden Reagenzen als gleichwertig.

Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

PerFix-nc-Lysesystem:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep-Lysesystem:

Anzahl der Spender = 25				
Positives Ziel	Mittelwert Δ	Δ % Zellkriterien	p-Wert	ERGEBNISSE
Lymphozyten	0,09	<3	0,659	PASS

GRENZWERT FÜR LEERWERT UND NACHWEISGRENZE

Es wurde eine Studie gemäß CLSI-Dokument EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluierung des Detektionsvermögens von klinischen Labormessverfahren), durchgeführt. Die Nachweisgrenze (LOD) ist die niedrigste Konzentration des Analyten, die durchweg nachgewiesen werden kann. Die erzielten Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

PerFix-nc-Lysesystem:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/ μ L)	Nachweisgrenze (Zelle/ μ L)
Lymphozyten	0	4

IntraPrep-Lysesystem:

Positive Target	Grenzwert für Leerwert (Zelle/ μ L)	Nachweisgrenze (Zelle/ μ L)
Lymphozyten	1	2

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Durchflusszytometrie kann falsche Ergebnisse liefern, wenn das Zytometer nicht perfekt ausgerichtet wurde, wenn Fluoreszenzlecks nicht korrekt kompensiert wurden und wenn die Bereiche nicht sorgfältig positioniert wurden.
2. Genaue und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, sofern die verwendeten Verfahren der technischen Packungsbeilage entsprechen und mit der guten Laborpraxis kompatibel sind.
3. Der konjugierte Antikörper dieses Reagenzes ist so kalibriert, dass er das beste Verhältnis von spezifischem zu unspezifischem Signal bietet. Daher ist es wichtig, das Verhältnis Reagenzvolumen/Probenvolumen bei jedem Test einzuhalten.
4. Im Falle einer Hyperleukozytose das Blut in PBS verdünnen, um einen Wert von ungefähr 5×10^9 Leukozyten/L zu erhalten(11).
5. Bei bestimmten Krankheitszuständen, beispielsweise einem schweren Nierenversagen oder Hämoglobinopathien, kann die Lyse der Erythrozyten möglicherweise nur langsam oder unvollständig erfolgen oder sogar unmöglich sein. In diesem Fall empfiehlt es sich, vor dem Färben einkernige Zellen mittels eines Dichtegradienten (beispielsweise Ficoll) zu isolieren (14).

6. Bei Patienten, die sich Therapien mit anti-humanen monoklonalen Antikörpern unterziehen, kann das Nachweisvermögen für die spezifischen anvisierten Antigene aufgrund einer teilweisen oder vollständigen Blockierung durch die therapeutischen Antikörper vermindert sein oder gänzlich ausbleiben.
7. Die Ergebnisse für CD79a-APC müssen unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde für den Patienten interpretiert werden, einschließlich Symptomen, klinischer Vorgesichte, Daten zusätzlicher Tests sowie sonstiger relevanter Informationen.

Beispiele und Literaturhinweise siehe Anhang.

MARKEN

Beckman Coulter, das stilisierte Logo und die in diesem Dokument erwähnten Beckman Coulter-Produkt- und Dienstleistungsmarken sind in den USA und anderen Ländern Marken oder eingetragene Marken von Beckman Coulter, Inc.

WEITERE INFORMATIONEN

Für einen Patienten/Benutzer/Dritten in der Europäischen Union und in Ländern mit identischer Regulierungspraxis (Verordnung 2017/746/EU über In-vitro-Diagnostika) gilt Folgendes: Sollte es im Rahmen der Verwendung dieses Produktes oder infolge der Verwendung dieses Produktes zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, ist dieser dem Hersteller und/oder dessen Bevollmächtigten sowie der nationalen Behörde zu melden.

Die „Summary of Safety and Performance“ (Bericht über Sicherheit und Leistung) kann aus der EUDAMED-Datenbank abgerufen werden: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSVERLAUF

REVISION AC:	Freigabedatum: Oktober 2019
REVISION	Freigabedatum
AW	Februar 2022
Aktualisierungen vorgenommen, um den Vorgaben der globalen Etikettierungsrichtlinie von Beckman Coulter und den Vorgaben nach IVD-R (EU) 2017/746 zu entsprechen:	
Abschnitte hinzugefügt	Nummer nach BSI 2797; Vorgesehener Benutzer; Klinische Anwendung; Konzentration; Präzision; Genauigkeit; Grenzwert für Leerwert und Nachweigrenze; Weitere Informationen; Revisionsübersicht.
Informationen hinzugefügt	Siehe Abschnitt Einschränkungen
Formulierung oder Typografie aktualisiert	Siehe die Abschnitte Verfahren; Leistung; Einschränkungen; Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen; Lagerung und Stabilität.
Abschnitte gestrichen	Beispiel für klinische Anwendungen; Reagenzien; Reproduzierbarkeit innerhalb des Labors; Linearität
Aktualisierte Abschnitte	Verwendungszweck; GHS-Gefahrstoffklassifizierung; Verfallsanzeichen; Verfahren; Anhang.
REVISION	Freigabedatum
AX	
Aktualisierte Abschnitte	Kasachisch hinzufügen
Aktualisierte Abschnitte	Lagerung und Stabilität

Liste der Symbole

Das Glossar der Symbole ist auf beckman.com/techdocs (Dokumentnummer B60062) verfügbar.

	Specifiche
Specificità	CD79a
Clone	HM47
Ibridoma	NS1 x balb/c
Immunogeno	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobulina	IgG1
Specie	Topo
Purificazione	Cromatografia di affinità
Fluorocromo	Allophyccyanin (APC)
Rapporto molare	APC / Ig: 0,5 - 1,5
Eccitazione λ	633/638 nm
Picco di emissione	660 nm
Tampone	PBS pH 7,2 più 2 mg/mL di BSA e NaN ₃ 0,1%

IOTest

Anticorpo coniugato

CD79a-APC

[REF] B36287 100 test; 1 mL, 10 μ L / test

Per uso diagnostico *in vitro*

USO PREVISTO

Questo anticorpo coniugato con fluorocromo consente l'identificazione qualitativa e non automatizzata di popolazioni cellulari che esprimono l'antigene CD79a presente nei campioni biologici umani mediante citometria a flusso (vedere la sezione "Campioni" di seguito).

PRINCIPIO

Questo test si basa sulla capacità di specifici anticorpi monoclonali di legarsi ai determinanti antigenici espressi dai leucociti.

La permeabilità è indotta nelle membrane citoplasmatiche di leucociti per la dimostrazione dei determinanti antigenici intracellulari mediante anticorpi monoclonali fluorescenti. I leucociti vengono poi analizzati mediante citometria a flusso.

Il citometro a flusso misura la diffusione di luce e la fluorescenza delle cellule. Ciò consente la delimitazione della popolazione di interesse con la finestra elettronica definita in un istogramma, che correla la diffusione ortogonale della luce (scattering laterale o SS) e la diffusione della luce ad angolo stretto (scattering frontale o FS). Altri istogrammi che combinano due dei diversi parametri disponibili sul citometro possono essere usati come supporti nella fase di determinazione del gate in base alle applicazioni scelte dall'utente.

La fluorescenza delle cellule delimitate viene analizzata per distinguere gli eventi colorati in modo positivo e quelli non colorati. I risultati sono espressi come percentuale di eventi positivi in relazione a tutti gli eventi acquisiti mediante determinazione del gate.

UTENTE PREVISTO

Questo prodotto è destinato all'uso professionale in laboratorio.

RILEVANZA CLINICA

CD79a-APC è un anticorpo CD79a utilizzato per identificare e caratterizzare le cellule che esprimono l'antigene CD79a mediante citometria a flusso. Questo prodotto da solo non può e non intende generare alcuna conclusione diagnostica.

Se impiegato in combinazione con altri marcatori, questo prodotto può essere utilizzato con una o più delle seguenti funzioni:

- Come supporto nella diagnosi differenziale di pazienti con anomalie ematologiche e sospetta neoplasia ematopoietica e nel monitoraggio di pazienti con neoplasia ematopoietica nota.

Vedere i riferimenti seguenti:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

CAMPIONI

I campioni di sangue venoso devono essere prelevati utilizzando provette sterili contenenti un sale EDTA come anticoagulante.

I campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18-25 °C) e non devono essere agitati. I campioni devono essere omogeneizzati agitandoli con delicatezza prima di prelevare il campione per il test.

I campioni devono essere analizzati entro 24 ore dalla venipuntura.

CONCENTRAZIONE

Vedere il Certificato di analisi specifico del lotto sul sito www.beckman.com.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza.
2. Non congelare.
3. Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18-25 °C).
4. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.
5. Evitare la contaminazione micrbiaca dei reagenti, poiché potrebbe falsare i risultati.
6. Le soluzioni di anticorpi che contengono sodio azide (NaN₃) devono essere maneggiate con cura. Non ingerire ed evitare qualsiasi contatto con cute, mucose e occhi.

Inoltre, in un mezzo acido, il sodio azide può formare acido idrazoico, che è potenzialmente pericoloso. Per lo smaltimento, si consiglia di diluire il reagente in un grande volume di acqua prima di versarlo nell'impianto di scarico, in modo da evitare l'accumulo di sodio azide nelle tubazioni metalliche ed evitare il rischio di esplosione.

7. Tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere maneggiati con cura (in particolare, indossando guanti, camici e occhiali protettivi).
8. Non pipettare mai usando la bocca ed evitare il contatto dei campioni con la pelle, le mucose e gli occhi.
9. Le provette per il sangue e i materiali monouso usati per la manipolazione devono essere smaltiti in appositi contenitori destinati all'inceneritore.
10. I reagenti e i rifiuti devono essere smaltiti conformemente alla normative locali.

CLASSIFICAZIONE DEI PERICOLI GHS

Classificato come non pericoloso



La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Questo reagente deve essere mantenuto a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, al riparo dalla luce, prima e dopo l'apertura della fiala.

Durata di conservazione della fiala chiusa secondo studi di stabilità: 730 giorni.

Stabilità di una fiala aperta: il reagente è stabile per 180 giorni.

INDICI DI DETERIORAMENTO

Qualsiasi cambiamento dell'aspetto fisico dei reagenti può indicare un deterioramento. In tale caso, non utilizzare il reagente.

Per ulteriori informazioni, o nel caso in cui il prodotto ricevuto risulti danneggiato, rivolgersi all'assistenza clienti Beckman Coulter al numero 800-742-2345 (USA o Canada) o mettersi in contatto con il rappresentante locale Beckman Coulter.

SOMMARIO

Il conservante sodio azide può formare composti esplosivi nelle tubazioni metalliche di scarico. Vedere il bollettino NIOSH: Explosive Azide Hazard (16/8/76) (Bollettino dell'Istituto Nazionale per la Sicurezza e la Salute sul Lavoro: Rischio di esplosione del sodio azide).

Per evitare il possibile accumulo di azidi, lavare i tubi di scarico con acqua dopo lo smaltimento del reagente puro. Il sodio azide deve essere eliminato conformemente alle normative locali applicabili.

COMPONENTI NECESSARI MA NON FORNITI CON IL KIT:

- Provette per campioni e materiale necessario per il campionamento.
- Pipette automatiche con punte monouso per 10, 100 e 500 µL.
- Provette per emolisi in plastica.
- Per ottenere risultati ottimali, si consigliano i seguenti reagenti (attenersi alla specifica procedura correlata):
Reagente IntraPrep Fixation/ Permeabilization (Cod. A07802 o A07803)
PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit), per preparazione di colorazione intracellulare ed extracellulare (Cod. B31167 o B31168)
- Reagente di fissaggio dei leucociti. Ad esempio: Soluzione fissante IOTest 3 (Rif. A07800).
- Controllo di isotipo APC: reagente IOTest (Rif. IM2475).
- Tampone (PBS: 0,01 M di fosfato di sodio, 0,145 M di cloruro di sodio, pH 7,2).
- Centrifugare.
- Agitatore automatico (tipo Vortex).
- Citometro a flusso.

PROCEDURA CON REAGENTE PERFIX-NC

Di seguito viene illustrata la procedura consigliata per l'uso del kit PerFix-nc (nessun kit di dosaggio per centrifuga) per la preparazione della colorazione intracellulare ed extracellulare (Rif. B31167 o B31168).

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. IM2475).

KIT DI PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Reagenti PerFix-nc Buffer 1 e 2

Non è necessaria alcuna ricostituzione. Entrambi i reagenti possono essere utilizzati direttamente dal flacone.

Preparazione del Reagente del PerFix-nc Buffer 3

Preparare estemporaneamente Final 1X Reagent.

Diluire 10X Concentrated PerFix-nc Buffer 3 (Final 10X Solution) in acqua deionizzata: 1 volume di Buffer 3 con 9 volumi di acqua. Miscelare bene prima dell'uso. Si consiglia di preparare solo il volume di Final 1X Reagent necessario per gli sperimenti del giorno.

1. Pipettare 50 µL di campione di sangue in fondo a ciascuna provetta con adeguata etichetta. Evitare che un po' di sangue vada sul lato della provetta, altrimenti non sarà trattato correttamente.
2. Pipettare 5 or 25 µL di reagente fissativo in ogni provetta, in base alle necessità di fissazione (bassa o alta). Per i dettagli relativi ai protocolli di fissazione bassa/alta, consultare le istruzioni per l'uso di PerFix-nc.
3. Vortexare immediatamente e incubare per 15 min a temperatura ambiente (18 – 25 °C).

4. Miscelare di nuovo con Vortex il sangue fissato e aggiungere 300 µL di Permeabilizing Reagent a ogni provetta; miscelare immediatamente con Vortex.
5. Aggiungere immediatamente a ciascuna provetta 10 µL di anticorpi coniugati con fluorocromo contro epitopi intracellulari e molecole superficiali (in alternativa, gli anticorpi possono essere premiscelati in Permeabilizing Reagent e aggiunti complessivamente al termine della fase di fissazione).
6. Miscelare immediatamente con Vortex e incubare per 15 - 30 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere a ciascuna provetta 3 mL di Final 1X Reagent (preparato da 10X Concentrated Final Solution); miscelare immediatamente con Vortex; il campione è quindi pronto per l'analisi con un citometro a flusso.

NOTA: i preparati possono essere conservati per 24 ore prima dell'analisi citometrica. Si consiglia di conservarli ad una temperatura di 2-8 °C, al riparo dalla luce.

PROCEDURA CON REAGENTE INTRAPREP

Di seguito viene illustrata la procedura consigliata per l'uso di reagente IntraPrep Fixation/Permeabilization (Cod. A07802 o A07803).

Per ogni campione analizzato, oltre alla provetta del test, si può aggiungere una provetta di controllo in cui miscelare le cellule in presenza di controllo di isotipo (Rif. IM2475).

Per un campione di sangue, la colorazione ottimale si ottiene utilizzando un numero di leucociti tra 3 e 10×10^3 cellule / µL. Diluire se la concentrazione di leucociti è superiore a 10×10^3 cellule / µL (11).

1. Aggiungere 50 µL di sangue campionato in EDTA a ogni provetta.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 100 µL di reagente IntraPrep 1 (Fixation).
3. Agitare vigorosamente le provette con il Vortex per 3-5 secondi.
4. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15 minuti, al riparo dalla luce.
5. Aggiungere 4 mL di PBS a ciascuna provetta.
6. Centrifugare per 5 minuti a 300 x g a temperatura ambiente. Rimuovere il surnatante mediante aspirazione.
7. Aggiungere 100 µL di reagente IntraPrep 2 (permeabilizzazione) a ogni provetta. Attendere la miscelazione per diffusione. NON USARE AGITARE TRAMITE VORTEX.
8. Incubare a temperatura ambiente per 5 minuti senza agitare.
9. Agitare le provette manualmente con attenzione per 2-3 secondi.
10. Aggiungere 10 µL di anticorpo coniugato IOTest specifico in ogni provetta del test e, se necessario, 10 µL di controllo di isotipo in ogni provetta di controllo.
11. Incubare a temperatura ambiente (18-25 °C) per 15-20 minuti, al riparo dalla luce.
12. Aggiungere 4 mL di PBS e centrifugare a 300 x g per 5 minuti a temperatura ambiente.
13. Eliminare il surnatante mediante aspirazione e risospendere il pellet di cellule in 0,5-1 mL di soluzione fissante IOTest 3 (Ref. A07800) alla sua concentrazione di lavoro (1X).
14. I preparati devono essere pronti per l'analisi citometrica.

B.: se i preparati devono essere conservati per più di 2 ore prima dell'analisi con il citometro, si raccomanda di tenerli a una temperatura tra 2 e 8 °C e al riparo dalla luce. Le provette conservate in questo modo devono essere utilizzate entro 24 ore.

VALORI ATTESI

Nei nostri laboratori, i campioni di sangue intero di donatori apparentemente sani 25 sono stati trattati utilizzando il reagente descritto sopra. I risultati ottenuti dal conteggio degli eventi positivi pertinenti a questo reagente sono riportati nella tabella di seguito:

Sistema di lisi PerFix-nc:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	10,98	4,13	37,60

Sistema di lisi IntraPrep:

Target positivo	Numero	Media (%)	SD	CV (%)
Linfociti	25	10,02	4,03	40,19

Tali valori sono forniti unicamente a scopo indicativo. Ogni laboratorio deve definire i propri valori attesi a partire dalla popolazione locale di donatori normali.

PRESTAZIONI

I dati delle prestazioni si ottengono adottando la procedura descritta in precedenza su campioni di sangue raccolti da meno di 24 ore in provette sterili con anticoagulante EDTA. L'analisi viene eseguita entro 2 ore dall'immunocolorazione.

SPECIFICITÀ

La molecola CD79a fa parte dell'eterodimero CD79a / CD79b, legato mediante ponte disolfuro e associato in modo non covalente alle immunoglobuline di superficie per formare il ricettore per l'antigene delle cellule B (BCR) (12). L'espressione della CD79a si manifesta precocemente nell'ontogenesi delle cellule B e in tali condizioni la sua localizzazione nello stadio pro-B è citoplasmatica. In uno stadio più avanzato, la molecola CD79a entra nella costituzione del BCR. La sua espressione sulla membrana rimane tale fino allo stadio di plasmacellula, dopo di che la sua localizzazione torna ad essere citoplasmatica (13).

Il MoAb HM47 reagisce con un epitopo intracitoplasmatico della molecola CD79a (13). Questo anticorpo è stato riconosciuto come specifico per l'antigene CD79a nel corso del 5° HLDA Workshop sugli Antigeni di Differenziazione dei Leucociti Umani, tenutosi a Boston, Stati Uniti, nel 1993 (WS Code: cB017, Section B) (13).

PRECISIONE

I valori percentuali positivi sono stati determinati utilizzando sangue intero. Ogni campione è stato analizzato 4 volte, due volte al giorno per 1 giorno su 2 strumenti utilizzando 2 lotti di reagenti per anticorpi monoclonali CD79a-APC. Le misurazioni (% positive) sono state eseguite sul citometro a flusso Navios.

L'analisi è stata condotta secondo il metodo EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione delle prestazioni di precisione dei metodi di misurazione quantitativa).

I nostri criteri di accettazione dipendono dal numero di eventi positivi misurati per ogni popolazione:

- Se evento positivo < 1.500, CV < 15%
- Se evento positivo > 1.500, CV < 10%

Sistema di lisi PerFix-nc:

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 1026							
	Inter-operatorie	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistema di lisi IntraPrep:

Linfociti							
Numero di eventi positivi (media) = 880							
	Inter-operatorie	Inter-citometro	Intra-lotto	Inter-lotto	Inter-analisi	Intra-analisi	Totale
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RISULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACCURATEZZA

L'accuratezza di CD79a-APC è stata valutata confrontando i risultati con un reagente di riferimento come predicato su una serie di campioni di sangue intero eseguiti su un citometro a flusso Navios. La distorsione tra il reagente in esame e quello di riferimento è stata determinata in base alla differenza tra i risultati del test. Se la distorsione rientra nell'intervallo di errore consentito o il valore p indica che non vi è una differenza significativa (> 0,05), allora i risultati dei test per i due reagenti sono considerati equivalenti.

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente:

Sistema di lisi PerFix-nc:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	0,32	<3	0,005	PASS

Sistema di lisi IntraPrep:

Numero di donatori = 25				
Target positivo	Δ medio	Criteri cellulari Δ %	Valore p	RISULTATI
Linfociti	0,09	<3	0,659	PASS

LIMITE DEL BIANCO E LIMITE DI RILEVAZIONE

È stato effettuato uno studio in conformità al documento EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione delle capacità di rilevamento delle procedure di misurazione del laboratorio clinico). Il limite di rilevazione (LoD) è la più bassa concentrazione di analita che può essere costantemente rilevata. I risultati ottenuti sono riportati nella seguente tabella:

Sistema di lisi PerFix-nc:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/ μ L)	Limite di rilevazione (cellula/ μ L)
Linfociti	0	4

Sistema di lisi IntraPrep:

Positive Target	Limite del bianco (cellula/ μ L)	Limite di rilevazione (cellula/ μ L)
Linfociti	1	2

LIMITAZIONI

1. La citometria a flusso può produrre falsi risultati se il citometro non viene allineato perfettamente, le perdite di fluorescenza non vengono correttamente compensate e le regioni non vengono posizionate attentamente.
2. Seguendo le procedure descritte nel foglietto illustrativo con le informazioni tecniche, compatibili con le buone pratiche di laboratorio, è possibile ottenere risultati accurati e riproducibili.
3. L'anticorpo coniugato di questo reagente è calibrato in modo da offrire un rapporto segnale specifico/segnale non specifico ottimale. Di conseguenza, è importante rispettare il rapporto fra volume di reagente e volume di campione in tutti i test.
4. In caso di iperleucocitosi, diluire il sangue in PBS in modo da ottenere un valore di circa 5×10^9 leucociti/L (11).
5. In alcuni stati patologici, come insufficienza renale grave o emoglobinopatie, la lisi degli eritrociti può risultare lenta, incompleta o persino impossibile. In questo caso, è consigliabile isolare le cellule mononucleate usando un gradiente di densità (ad esempio, Ficoll) prima della colorazione (14).
6. In pazienti trattati con terapie a base di anticorpi monoclonali anti-umani, il rilevamento di antigeni specifici può essere minore o assente a causa del blocco parziale o completo da parte dell'anticorpo terapeutico.
7. I risultati CD79a-APC devono essere interpretati alla luce del quadro clinico completo del paziente che comprende: sintomatologia, anamnesi clinica, risultati di altri test e altre informazioni appropriate.

Per esempi e riferimenti, vedere l'appendice.

MARCHI COMMERCIALI

Beckman Coulter, il logo stilizzato ed i marchi commerciali dei prodotti e servizi di Beckman Coulter menzionati qui, sono marchi commerciali o marchi commerciali registrati di Beckman Coulter, Inc., negli Stati Uniti e in altri paesi.

INFORMAZIONI AGGIUNTIVE

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e in paesi con identico regime normativo (Regolamento 2017/746/UE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro): se, durante l'utilizzo di questo dispositivo o in seguito al suo utilizzo, si fosse verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente.

Il Summary of Safety and Performance (Sintesi relativa alla sicurezza e alle prestazioni) è disponibile nel database EUDAMED all'indirizzo: ec.europa.eu/tools/eudamed.

CRONOLOGIA REVISIONI

REVISIONE AC:	Data di pubblicazione: Ottobre 2019
REVISIONE	Data di pubblicazione
AW	Febbraio 2022
Aggiornamenti conformi alla politica sull'etichettatura globale di Beckman Coulter e ai requisiti IVD-R (UE)2017/746:	
Sezioni aggiunte	Numero BSI 2797, Utente previsto, Rilevanza clinica, Concentrazione, Precisione, Accuratezza, Limite del bianco e limite di rilevazione, Informazioni aggiuntive, Cronologia revisioni.
Aggiunta di informazioni	Vedere le sezioni Limitazioni
Aggiornamenti testuali o tipografici	Vedere le sezioni Procedura, Prestazioni, Limitazioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità.
Sezioni rimosse	Esempio di applicazioni cliniche, Reagenti, Riproducibilità intra-laboratorio, Linearità
Sezioni aggiornate	Uso previsto, Classificazione pericoli GHS, Indici di deterioramento, Procedura, Appendice.
REVISIONE	Data di pubblicazione
AX	
Sezioni aggiornate	Aggiungere la lingua kazaka
Sezioni aggiornate	Conservazione e stabilità

Legenda dei simboli

Il Glossario dei simboli è disponibile all'indirizzo beckman.com/techdocs (documento numero B60062)

	Especificaciones
Especificidad	CD79a
Clon	HM47
Híbridoma	NS1 x balb/c
Inmunógeno	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Inmunoglobulina	IgG1
Especie	Ratón
Purificación	Cromatografía de afinidad
Fluorocromo	Allophycocyanin (APC)
Proporción molar	APC / Ig: 0,5 - 1,5
Excitación λ	633/638 nm
Pico de emisión	660 nm
Tampón	PBS pH 7,2 más 2 mg/mL BSA y 0,1 % NaN ₃

IOTest

Anticuerpo conjugado

CD79a-APC

[REF] B36287 100 determinaciones; 1 mL,
10 µL / test

Para uso diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Este anticuerpo conjugado con un fluorocromo permite la identificación cualitativa y no automatizada de poblaciones de células que expresan el antígeno CD79a presente en muestras biológicas humanas mediante citometría de flujo (véase la sección «Muestras» más adelante).

PRINCIPIO

Esta prueba se basa en la capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para unirse a los determinantes antigenicos expresados por leucocitos.

La permeabilidad se induce en las membranas citoplasmáticas de los leucocitos para la demostración de los determinantes antigenicos intracelulares por medio de anticuerpos fluorescentes monoclonales. Posteriormente los leucocitos se analizan mediante citometría de flujo.

El citómetro de flujo mide la dispersión de la luz y la fluorescencia de las células. Permite acotar la población de interés dentro de una ventana electrónica, definida en un histograma que correlaciona la dispersión lateral de luz (Side Scatter o SS) con la dispersión frontal de la luz (Forward Scatter o FS). Se pueden utilizar otros histogramas que combinen dos de los distintos parámetros disponibles en el citómetro como apoyo para la fase de selección en función de la aplicación utilizada por el usuario.

La fluorescencia de las células acotadas se analiza para distinguir los eventos con tinción positiva de los eventos sin teñir. Los resultados se expresan como un porcentaje de eventos positivos en relación con todos los eventos adquiridos mediante la selección.

USUARIO PREVISTO

Este producto está diseñado para su uso en un laboratorio profesional.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El reactivo CD79a-APC es un anticuerpo frente a CD79a utilizado para identificar y caracterizar células que expresan el antígeno CD79a mediante citometría de flujo. Este producto por sí solo no puede y no está diseñado para generar una conclusión diagnóstica.

Cuando se usa en combinación con otros marcadores, este producto puede utilizarse en una o más de las siguientes funciones:

- Ayudar al diagnóstico diferencial de pacientes con anomalías hematológicas en los que se sospecha la presencia de una neoplasia hematopoyética y realizar el seguimiento de pacientes con una neoplasia hematopoyética conocida.

Consulte las siguientes referencias:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MUESTRAS

La sangre venosa debe recogerse en tubos de muestra estériles que contengan una sal de EDTA como anticoagulante.

Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente (18-25 °C) y no agitarse. Antes de tomar la muestra de prueba, es necesario homogeneizarla mediante una agitación suave.

Las muestras deben analizarse en el plazo de 24 horas tras la venopunción.

CONCENTRACIÓN

Consulte el certificado de análisis específico del lote en www.beckman.com.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. No use el reactivo después de la fecha de caducidad.
2. No lo congele.
3. Déjelo a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su utilización.
4. Minimice el tiempo de exposición a la luz.
5. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que esto puede provocar resultados falsos.
6. Las soluciones de anticuerpo que contienen azida sódica (NaN₃) deben manipularse con precaución. No ingerir y evitar todo contacto con la piel, la mucosa y los ojos.

Asimismo, en un medio ácido, la azida sódica puede formar ácido hidrazoico potencialmente peligroso. Cuando se vaya a desechar, se recomienda diluir el reactivo en abundante agua antes de verterlo en el sistema de drenaje para evitar la acumulación de azida sódica en tubos metálicos y el riesgo de explosión.

7. Todas las muestras sanguíneas deben considerarse posiblemente infecciosas y deben manipularse con cuidado (en especial, hay que llevar guantes, bata y gafas de protección).
8. No pipetee nunca con la boca y evite todo contacto de las muestras con la piel, las mucosas y los ojos.
9. Los tubos para sangre y el material desechable utilizados para la manipulación deben eliminarse en recipientes especiales previstos para la incineración.
10. Los reactivos y los desechos deben eliminarse de acuerdo con los requisitos locales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico



La hoja de datos de seguridad está disponible en beckman.com/techdocs

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Este reactivo debe conservarse entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz, antes y después de abrir el vial.

Vida útil del vial cerrado según estudio de estabilidad: 730 días.

Estabilidad del vial abierto: el reactivo es estable durante 180 días.

SIGNOS DE DETERIORO

Cualquier cambio en el aspecto físico de los reactivos puede indicar un deterioro, por lo que no debe utilizarse el reactivo.

Para obtener información adicional o si el producto está dañado, llame al servicio de atención al cliente de Beckman Coulter en el 800-742-2345 (EE. UU. o Canadá) o póngase en contacto con su representante local de Beckman Coulter.

CONTENIDO

El conservante de azida sódica puede formar compuestos explosivos en las tuberías metálicas del desagüe. Véase el NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Boletín de NIOSH: Peligro de explosión con la azida) (16/8/76).

Para evitar la posible acumulación de compuestos de azida, límpie con agua los tubos de desagüe tras la eliminación del reactivo sin diluir. Para desechar la azida sódica deben seguirse las normativas locales adecuadas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT:

- Tubos y material de muestras necesarios para el muestreo.
- Pipetas automáticas para puntas desechables de 10, 100 y 500 µL.
- Tubos de hemólisis de plástico.
- Para obtener resultados óptimos, se recomienda utilizar los siguientes reactivos (siga el procedimiento específico correspondiente):
Reactivos de fijación/permeabilización IntraPrep (Ref A07802 o A07803)
Kit Perfix-nc (no centrifuge assay kit) para la preparación de la tinción intra y extracelular (Ref. B31167 o B31168)
- Reactivo de fijación de leucocitos. Por ejemplo: Solución de fijación IOTest 3 (Ref. A07800).
- Control de isotipo APC: Reactivo IOTest (Ref. IM2475).
- Tampón (PBS: 0,01 M de fosfato de sodio; 0,145 M de cloruro sódico; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de flujo.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO PERFIX-NC

A continuación se muestra el procedimiento recomendado para utilizar con el kit PerFix-nc (sin kit de ensayo de centrifugación) para la preparación de la tinción intra y extracelular (Ref B31167 o B31168).

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. IM2475).

PREPARACIÓN DEL REACTIVO DEL KIT

Reactivos del tampón 1 y 2 PerFix-nc

No es necesaria ninguna reconstitución. Estos reactivos pueden utilizarse directamente del frasco.

Preparación del reactivo del tampón 3 PerFix-nc

Prepare extemporáneamente el reactivo 1X final.

Diluya el tampón 3 PerFix-nc con una concentración 10X (solución final 10X) en agua desionizada: 1 volumen de tampón 3 con 9 volúmenes de agua. Mezcle bien antes del uso. Se recomienda preparar solo el volumen de reactivo 1X final necesario para las pruebas realizadas durante el día.

1. Pipetee 50 µL de muestra de sangre en el fondo de cada tubo etiquetado correctamente. Evite que la sangre toque el lateral del tubo; de lo contrario no se tratará correctamente.
2. Pipetea 5 or 25 µL del reactivo fijador en cada tubo, dependiendo de si se requiere una fijación baja o alta (consultar las instrucciones de uso de PerFix-nc para conocer los detalles de los protocolos de fijación baja/alta).
3. Agite con vórtex inmediatamente e incube durante 15 minutos a temperatura ambiente (18 – 25 °C).

4. Agite con vórtex la sangre fijada y añada 300 µL de reactivo de permeabilización en cada tubo; agite con vórtex inmediatamente.
5. Añada inmediatamente 10 µL de los anticuerpos conjugados con fluorocromo contra los epítopos intracelulares y moléculas de superficie (alternativamente, los anticuerpos pueden premezclarse en el reactivo de permeabilización y añadirse por completo al final de la etapa de fijación).
6. Agite con vórtex inmediatamente e incube durante 15 - 30 min. como mínimo a temperatura ambiente.
7. Añada a cada tubo 3 mL de reactivo 1X final (preparado a partir de la solución final con concentración 10X). Agite con vórtex inmediatamente; la muestra ya está lista para el análisis en un citómetro de flujo.

NOTA: Si las preparaciones van a almacenar durante más de 24 horas antes del análisis de citometría, se recomienda almacenarlas entre 2 y 8 °C y protegidas de la luz.

PROCEDIMIENTO CON EL REACTIVO INTRAPREP

A continuación se indica el procedimiento recomendado para utilizar con el reactivo de fijación/permeabilización IntraPrep (Ref. A07802 o A07803).

Para cada muestra analizada, además del tubo de ensayo, se puede añadir un tubo de control en el que se mezclan las células en presencia de los controles de isotipo (Ref. IM2475).

Para una muestra de sangre, la tinción óptima se obtiene mediante el uso de leucocitos a una concentración entre 3 y 10 x 10³ células / µL. Realice una dilución si la concentración de leucocitos es superior a 10 x 10³ células / µL (11).

1. Añadir 50 µL de sangre extraída con EDTA a cada tubo de ensayo.
2. Añada 100 µL de reactivo IntraPrep 1 (fijación) a cada tubo.
3. Agite enérgicamente en el vórtex los tubos entre 3 y 5 segundos.
4. Incube durante 15 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
5. Añada 4 mL de PBS en cada tubo.
6. Centrifugue durante 5 minutos a 300 x g a temperatura ambiente. Elimine el sobrenadante mediante aspiración.
7. Añada a cada tubo 100 µL de reactivo IntraPrep 2 (Permeabilización). Permita mezclar mediante dispersión. NO MEZCLAR EN EL VÓRTEX.
8. Incube durante 5 minutos a temperatura ambiente y sin agitar.
9. Agite los tubos con cuidado y de forma manual entre 2 y 3 segundos.
10. Añadir 10 µL de anticuerpos conjugados específicos IOtest a cada tubo de muestra problema y, si es necesario, 10 µL del control de isotipo a cada tubo de control.
11. Incube entre 15 y 20 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) y protegido de la luz.
12. Añada 4 mL de PBS y centrifugue durante 5 minutos a 300 x g a temperatura ambiente.
13. Elimine el líquido que flota en la superficie mediante aspiración y vuelva a suspender el sedimento celular a entre 0,5 mL y 1 mL de solución fijadora IOtest 3 (ref. A07800) a su concentración operativa (1X).
14. Las preparaciones están listas para los análisis citométricos.

ADVERTENCIA: Si las preparaciones no se analizan antes de 2 horas, se recomienda conservarlas entre 2 y 8 °C en un lugar protegido de la luz. Los tubos así almacenados no se deben conservar más de 24 horas.

VALORES ESPERADOS

Se trataron en nuestros laboratorios las muestras de sangre total de 25 donantes aparentemente sanos utilizando el reactivo descrito. Los resultados obtenidos del recuento de eventos de interés positivos con este reactivo se proporcionan en la siguiente tabla:

Sistema de lisado PerFix-nc:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	10,98	4,13	37,60

Sistema de lisado IntraPrep:

Objetivo positivo	Cantidad	Media (%)	DE	CV (%)
Linfocitos	25	10,02	4,03	40,19

Estos valores tienen carácter meramente ilustrativo. Cada laboratorio deberá establecer sus valores esperados según la población local de donantes normales.

RENDIMIENTO

Los datos de rendimiento se obtuvieron utilizando el procedimiento descrito anteriormente en muestras de sangre con menos de 24 horas desde su extracción en tubos estériles con sal de EDTA como anticoagulante. El análisis se realizó en el plazo de 2 horas desde su inmunotinción.

ESPECIFICIDAD

La molécula CD79a forma parte del heterodímero CD79a/CD79b, unido por un enlace disulfuro, y asociado no covalentemente con las inmunoglobulinas de superficie para formar el receptor de las células B (BCR) (12). La expresión de CD79a se inicia de manera precoz en la ontogenia de las células B y su localización en el estadio pro-B es citoplasmática. Más tarde, la molécula CD79a se incorpora al BCR. Su expresión en membrana persiste hasta el estadio de célula plasmática, estadio a partir del cual su localización vuelve a ser citoplasmática (13).

El AcMo HM47 reconoce un epítopo intracitoplasmático de la molécula CD79a (13). Este anticuerpo se asignó al CD79a en el transcurso del 5º HLDA Workshop sobre Antígenos de Diferenciación de los Leucocitos Humanos, Boston, EE.UU, en 1993 (WS Código: cB017, Sección B) (13).

PRECISIÓN

Los valores porcentuales positivos se determinaron utilizando sangre total. Cada muestra se procesó 4 veces, dos veces al día durante 1 día en 2 instrumentos utilizando 2 lotes de reactivos de anticuerpo monoclonal CD79a-APC. Las mediciones (% de positivos) se realizaron en un citómetro de flujo Navios. El

análisis se realizó según el método EP5-A2 del CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluación del rendimiento de la precisión de los métodos de medición cuantitativos).

Nuestro criterio de aceptación depende del número de eventos positivos determinado en cada población:

- Si el número de eventos positivos es < 1500, CV < 15 %
- Si el número de eventos positivos es > 1500, CV < 10 %

Sistema de lisado PerFix-nc:

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 1026							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistema de lisado IntraPrep:

Linfocitos							
Número de eventos positivos (media) = 880							
	Entre operadores	Entre citómetros	Intralote	Entre lotes	Entre análisis	Intraanálisis	Total
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXACTITUD

La exactitud de CD79a-APC se evaluó comparando los resultados con un reactivo de referencia como valor previsto en un conjunto de muestras de sangre total procesadas en un citómetro de flujo Navios. El sesgo entre la muestra problema y el reactivo de referencia se determinó en función de la diferencia entre los resultados de la prueba. Si el sesgo está dentro del rango de error permitido o el valor p indica una diferencia no significativa (> 0,05), entonces los resultados de la prueba de los dos reactivos se consideran equivalentes.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla que se muestra a continuación:

Sistema de lisado PerFix-nc:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	0,32	<3	0,005	PASS

Sistema de lisado IntraPrep:

Número de donantes = 25				
Objetivo positivo	Δ medio	Criterios de Δ % de células	Valor p	RESULTADOS
Linfocitos	0,09	<3	0,659	PASS

LÍMITE DE BLANCO Y LÍMITE DE DETECCIÓN

Se realizó un estudio conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluación de la capacidad de detección para procedimientos de medición en laboratorios clínicos). El límite de detección (LD) es la concentración de analito más baja que se puede detectar sistemáticamente. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente:

Sistema de lisado PerFix-nc:

Positive Target	Límite de Blanco (células/ μ L)	Límite de Detección (células/ μ L)
Linfocitos	0	4

Sistema de lisado IntraPrep:

Positive Target	Límite de Blanco (células/ μ L)	Límite de Detección (células/ μ L)
Linfocitos	1	2

LIMITACIONES

1. La citometría de flujo puede producir resultados falsos si el citómetro no se ha alineado a la perfección, si las fugas de fluorescencia no se han compensado correctamente y si las regiones no se han colocado con atención.
2. Se obtendrán resultados exactos y reproducibles siempre que los procedimientos utilizados sean conformes al folleto técnico y compatibles con las prácticas correctas de laboratorio.
3. El anticuerpo conjugado de este reactivo se calibra para ofrecer la mejor relación de señal específica/señal no específica. Por lo tanto, es importante cumplir la relación de volumen del reactivo/volumen de la muestra en cada prueba.
4. En caso de hiperleucocitosis, diluya la sangre en PBS para obtener un valor de aproximadamente 5×10^9 leucocitos/L (11).
5. En algunos estados de la enfermedad, como el fallo renal grave o las hemoglobinopatías, la lisis de los eritrocitos puede ser lenta, incompleta o incluso imposible. En este caso, se recomienda aislar las células mononucleares por gradiente de densidad (por ejemplo, Ficoll) antes de la tinción (14).
6. En pacientes tratados con terapias con anticuerpos monoclonales anti-humanos, la detección de los antígenos diana específicos puede estar disminuida o ausente debido al bloqueo parcial o completo por el anticuerpo terapéutico.
7. Los resultados de CD79a-APC deben interpretarse a la luz del cuadro clínico total del paciente, incluidos: síntomas, historial clínico, datos de pruebas adicionales y demás información pertinente.

Consulte el anexo para ver ejemplos y referencias.

MARCAS COMERCIALES

Beckman Coulter, el logotipo estilizado y las marcas de productos y servicios de Beckman Coulter aquí mencionadas son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Beckman Coulter, Inc. en Estados Unidos y otros países.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para pacientes/usuarios/terceros de la Unión Europea y países con el mismo régimen normativo (Reglamento 2017/746/UE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro); si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produjese un incidente grave, informe al fabricante y/o a su representante autorizado y a la autoridad nacional.

El Summary of Safety and Performance (Resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIAL DE REVISIONES

REVISIÓN AC:	Fecha de publicación: Octubre de 2019
REVISIÓN	Fecha de publicación
AW	Febrero de 2022
Actualizaciones para cumplir con la política de etiquetado global de Beckman Coulter y conforme a los requisitos del Reglamento (UE)2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro:	
Se han añadido secciones	Número BSI 2797, Usuario previsto, Rendimiento clínico, Concentración, Precisión, Exactitud, Límite de blanco y límite de detección, Información adicional, Historial de revisiones.
Información añadida	Véase la sección Limitaciones
Actualizaciones de redacción y tipográficas	Véanse las secciones Procedimiento, Rendimiento, Limitaciones, Advertencias y precauciones, Conservación y Estabilidad.
Se han eliminado secciones	Ejemplo de aplicaciones clínicas, Reactivos, Reproducibilidad intralaboratorio, Linealidad
Se han actualizado las secciones	Uso previsto, Clasificación de material peligroso según el SGA, Signos de deterioro, Procedimiento, Anexo.
REVISIÓN	Fecha de publicación
AX	
Se han actualizado las secciones	Añadir kazajo
Se han actualizado las secciones	Conservación y Estabilidad

Lista de símbolos

El glosario de símbolos está disponible en beckman.com/techdocs (número de documento B60062)

	Especificações
Especificidade	CD79a
Clone	HM47
Híbridoma	NS1 x balb/c
Imunogénio	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Rato
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Allophycocyanin (APC)
Razão molar	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	633/638 nm
Pico de emissão	660 nm
Tampão	PBS com pH 7,2 mais 2 mg/mL de ASB e 0,1% de NaN ₃

IOTest

Anticorpo conjugado

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testes; 1 mL, 10 µL / test

Para fins de diagnóstico *in vitro*

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Este anticorpo conjugado com fluorocromos permite a identificação qualitativa e não automatizada de populações de células que expressam o抗igénio CD79a presente em amostras biológicas humanas utilizando citometria de fluxo (consulte a secção «Amostras» abaixo).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade dos anticorpos monoclonais específicos se ligarem aos determinantes antigénicos expressados por leucócitos.

A permeabilidade é induzida nas membranas citoplásmicas dos leucócitos para demonstração dos determinantes antigénicos intracelulares, através dos anticorpos fluorescentes monoclonais. Os leucócitos são, então, analisados pela citometria de fluxo.

O citómetro de fluxo mede a difusão de luz e a fluorescência das células. Permite delimitar a população de interesse dentro da janela eletrónica definida num histograma que correlaciona a difusão ortogonal de luz (dispersão lateral ou DL) e a difusão de luz em ângulos estreitos (dispersão frontal ou DF). É possível utilizar outros histogramas que combinam dois dos vários parâmetros disponíveis no citómetro como suporte na fase de delimitação, consoante a aplicação escolhida pelo utilizador.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são apresentados como uma percentagem de eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos por meio da delimitação.

UTILIZADOR PREVISTO

Este produto destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD79a-APC é um anticorpo de CD79a utilizado para identificar e caracterizar células que expressam o抗igénio CD79a por citometria de fluxo. Este produto, por si só, não pode e não se destina a gerar qualquer conclusão de diagnóstico.

Quando utilizado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser utilizado numa ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com alterações hematológicas, suspeitos de padecerem de neoplasia hematopoiética, e para monitorizar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.

Consulte as seguintes referências:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

O sangue venoso deve ser recolhido utilizando tubos estéreis que contenham um sal de AEDT como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente (18–25 °C) e não devem ser agitadas. As amostras devem ser homogeneizadas, agitando-as levemente, antes de a amostra de teste ser retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a punção venosa.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o Certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não utilize o reagente depois da data de validade.
2. Não congele.
3. Aguarde que fique à temperatura ambiente (18–25 °C) antes da utilização.
4. Evite a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, caso contrário, poderão ocorrer falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos que contêm azida sódica (NaN₃) devem ser manuseadas com cuidado. Não ingira e evite qualquer contacto com a pele, as mucosas e os olhos.

Adicionalmente, num meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazóico potencialmente perigoso. Se a sua eliminação for necessária, é recomendável que o reagente seja diluído num grande volume de água antes de ser vertido no sistema de drenagem, para evitar a acumulação de azida sódica em tubos metálicos e prevenir o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infeciosas e manuseadas com cuidado (em especial, devem ser usados óculos, batas e luvas de proteção).
8. Nunca pipete com a boca e evite qualquer contacto das amostras com a pele, as mucosas e os olhos.
9. Os tubos de sangue e os materiais descartáveis utilizados para manuseamento devem ser eliminados em recipientes específicos destinados a incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso



A Ficha de dados de segurança está disponível em beckman.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido a uma temperatura entre 2 e 8 °C e protegido da luz, antes e após a abertura do frasco.

Vida útil em frasco fechado para estudo de estabilidade: 730 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente permanece estável durante 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DEGRADAÇÃO

Uma alteração no aspeto físico dos reagentes poderá indicar deterioração, pelo que o reagente não deve ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, contacte a assistência ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou contacte o seu representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em sistemas de canalizações metálicas. Consulte o boletim do NIOSH: Explosive Azide Hazards (Perigos de explosão da azida) (16-8-76).

Para evitar a possível acumulação de compostos de azida, enxague as condutas de resíduos com água após a eliminação do reagente não diluído. A eliminação de azida sódica deve ser efetuada de acordo com os regulamentos locais adequados.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostras e materiais necessários para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos de plástico para hemólise.
- Para obter resultados optimizados, são recomendados os seguintes reagentes (sigam o procedimento específico relacionado).
Reagente de fixação/permeabilização IntraPrep (Ref. A07802 ou A07803)
Kit PerFix-nc (no centrifuge assay kit), para Preparação de coloração intra e extra celular (Ref. B31167 ou B31168)
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controlo de isótipo APC de : reagente IOTest (Ref. IM2475).
- Tampão (PBS: 0,01 M de fosfato de sódio; 0,145 M de cloreto de sódio; pH 7,2).
- Centrifugue.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citómetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE PERFIX-NC

Segue-se o procedimento recomendado para utilizar com o kit PerFix-nc (sem kit de ensaio em centrifuga) para preparação da coloração intra e extracelular (Ref. B31167 ou B31168).

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isótipo (Ref. IM2475).

PREPARAÇÃO DO REAGENTE DO KIT

Reagentes de solução tampão 1 e 2 PerFix-nc

Não é necessária reconstituição. Ambos os reagentes podem ser utilizados directamente da ampola.

Preparação do reagente do tampão 3 do PerFix-nc

Prepare extemporaneamente o reagente Final 1X.

Dilua a solução tampão 3 com concentração de 10X PerFix-nc (solução final 10X) em água desionizada: 1 volume de solução tampão 3 com 9 volumes de água. Misture bem antes de utilizar. Recomendamos a preparação apenas do volume do reagente Final 1X necessário para as experiências do dia.

1. Pipete 50 µL de amostra de sangue no fundo de cada tubo devidamente etiquetado. Evite colocar sangue na lateral do tubo, pois essa parte não será devidamente tratada.
2. Pipete 5 or 25 µL do reagente fixador para cada tubo de amostra, de acordo com a necessidade de uma baixa ou alta fixação (consulte as Instruções de utilização do PerFix-nc para obter detalhes sobre os protocolos de baixa/alta fixação).
3. Agite no vórtice de imediato e coloque em incubação durante 15 min à temperatura ambiente (18 – 25 °C).

4. Agite novamente o sangue fixado e adicione 300 µL de Reagente de permeabilização em cada tubo; agite imediatamente.
5. Adicione imediatamente em cada tubo 10 µL de anticorpos conjugados com fluorocromo relativamente aos epítopes intracelulares e moléculas de superfície (alternativamente, os anticorpos podem ser pré-misturados no Reagente de permeabilização e adicionados em conjunto no final do passo de fixação).
6. Agite imediatamente e incube durante 15 a 30 min à temperatura ambiente.
7. Adicione 3 mL de Reagente Final 1X (preparado a partir da Solução final em concentração de 10X) em cada tubo; agite imediatamente; a amostra está agora preparada para análise num citômetro de fluxo.

NOTA: As preparações podem ser armazenadas durante 24 horas antes da análise citométrica. É aconselhável armazená-las entre 2 e 8 °C e protegê-las da luz.

PROCEDIMENTO COM REAGENTE INTRAPREP

A seguir é apresentado o procedimento recomendado a utilizar com o reagente de fixação/permeabilização IntraPrep (Refª A07802 ou A07803).

Além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controlo a cada amostra analisada, no qual as células são misturadas na presença do controlo de isotipo (Ref. IM2475).

Para uma amostra de sangue, a coloração optimizada é obtida utilizando um número de leucócitos entre 3 e 10 x 10³ células / µL. Se a concentração de leucócitos for superior a 10 x 10³ células / µL, dilua (11).

1. Adicione 50 µL de amostra de sangue em EDTA a cada tubo de amostra.
2. Adicione a cada tubo 100 µL de reagente IntraPrep 1 (Fixação).
3. Agite vigorosamente os tubos em vórtex durante 3 a 5 segundos.
4. Incube durante 15 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
5. Adicione 4 mL de PBS a cada tubo.
6. Centrifuge durante 5 minutos a 300 x g à temperatura ambiente. Remova o sobrenadante por aspiração.
7. Adicione 100 µL de reagente IntraPrep 2 (permeabilização) a cada tubo. Deixe misturar por difusão. NÃO AGITE EM VÓRTEX.
8. Incube durante 5 minutos à temperatura ambiente, sem agitar.
9. Agite os tubos manualmente e com cuidado durante 2 a 3 segundos.
10. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado com IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL dos controlos de isotipo a cada tubo de controlo.
11. Incube durante 15 a 20 minutos à temperatura ambiente (18–25 °C), protegido da luz.
12. Adicione 4 mL de PBS e centrifugue a 300 x g durante 5 minutos à temperatura ambiente.
13. Remova o sobrenadante através de aspiração e ressuspenda o precipitado celular em 0,5 a 1 mL de solução fixadora IOTest 3 (ref. A07800) na sua concentração de trabalho (1X).
14. As preparações estão prontas para análise por citometria.

NOTA: Se as preparações vão ser conservadas por mais de 2 horas, antes da análise citométrica, devem ser conservadas entre 2 – 8 °C e protegidas da luz. Não obstante, estas preparações conservadas deste modo não devem manter-se por mais de 24 horas.

VALORES ESPERADOS

Nos nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 dadores aparentemente saudáveis foram tratadas utilizando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos de interesse positivos com este reagente são fornecidos na tabela abaixo:

Sistema de lise PerFix-nc:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	10,98	4,13	37,60

Sistema de lise IntraPrep:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP	CV (%)
Linfócitos	25	10,02	4,03	40,19

Estes valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores esperados a partir da população local de dadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos utilizando o procedimento descrito acima em amostras de sangue colhidas há menos de 24 horas em tubos de amostra estéreis com sal de AEDT como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD79a é parte do heterodímero disulfida-ligado CD79a / CD79b, não-covalentemente ligado a superfície das imunoglobulinas para formar receptores celulares B (BCR) (12). A expressão de CD79a aparece cedo na ontogenese das células B e a sua localização na fase pro-B é por tanto citoplasmática. Mais tarde a CD79a forma parte dos BCR. A sua expressão membranal persiste sobre a fase plasmocítica, fase na qual a sua localização começa a ser novamente citoplasmática (13).

O mAb HM47 reage com um epítopo intracitoplasmático da molécula CD79a (13). Este anticorpo foi atribuído ao CD79a no 5º HLDA Workshop (Human Leucocyte Differentiation Antigens) que decorreu em Boston, nos EUA, em 1993 (WS Code: cB017, Section B) (13).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados utilizando sangue total. Cada amostra foi executada 4 vezes, duas vezes por dia para 1 dia em 2 instrumentos, utilizando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD79a-APC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de

fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação do desempenho de precisão dos métodos de medição quantitativos).

Os nossos critérios de aceitação estão dependentes do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Em caso de eventos positivos <1500, CV <15%
- Em caso de eventos positivos >1500, CV <10%

Sistema de lise PerFix-nc:

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1026							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistema de lise IntraPrep:

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 880							
	Interoperador	Intercitómetro	Intralote	Interlote	Interprocessamento	Intraprocessamento	Total
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD79a-APC foi avaliada através da comparação dos resultados com um reagente de referência como equivalente, num conjunto de amostras de sangue total executadas num citómetro de fluxo Navios. A tendência entre o teste e o reagente de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados do teste. Se a tendência se encontrar dentro do intervalo de erro permitido ou o valor p não indicar uma diferença significativa (>0,05), os resultados do teste de ambos os reagentes são considerados equivalentes.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela abaixo:

Sistema de lise PerFix-nc:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,32	<3	0,005	PASS

Sistema de lise IntraPrep:

Número de dadores = 25				
Alvo positivo	Δ médio	Critérios celulares de % Δ	Valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,09	<3	0,659	PASS

LIMITE DO BRANCO E LIMITE DE DETEÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com o CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de deteção para procedimentos de medição em laboratórios clínicos). O Limite de deteção (LD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada consistentemente. Os resultados obtidos são resumidos na tabela a seguir:

Sistema de lise PerFix-nc:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	0	4

Sistema de lise IntraPrep:

Positive Target	Limite do branco (célula/µL)	Limite de deteção (célula/µL)
Linfócitos	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo poderá produzir falsos resultados se o citómetro não tiver sido perfeitamente alinhado, se as fugas de fluorescência não tiverem sido compensadas corretamente e se as regiões não tiverem sido cuidadosamente posicionadas.
2. Serão obtidos resultados exatos e reproduutíveis desde que os procedimentos utilizados estejam de acordo com o folheto técnico e cumpram as boas práticas laboratoriais.
3. O anticorpo conjugado deste reagente é calibrado para proporcionar a melhor relação entre sinal específico/sinal não específico. Por conseguinte, é importante respeitar a relação entre volume do reagente/volume da amostra em todos os testes.
4. No caso de uma hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5×10^9 leucócitos/L (11).
5. Em determinados estados de doença, como insuficiência renal grave ou hemoglobinopatias, a lise de glóbulos vermelhos poderá ser lenta, incompleta ou até impossível. Neste caso, recomenda-se isolar células mononucleadas utilizando um gradiente de densidade (por exemplo, Ficoll) antes da coloração (14).
6. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a deteção dos抗igénios específicos visados pode ser reduzida ou inexistente devido ao bloqueio parcial ou total causado pelo anticorpo terapêutico.
7. Os resultados de CD79a-APC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, historial clínico, dados de testes adicionais e outras informações relevantes.

Consulte o Anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logótipo estilizado e as marcas de produtos e serviços da Beckman Coulter mencionadas neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e noutras países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento 2017/746/UE relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro): se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível a partir da base de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÕES

REVISÃO AC:	Data de lançamento: Outubro de 2019
REVISÃO	Data de lançamento
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações no sentido de cumprir a política de rotulagem da Beckman Coulter Global e os requisitos do regulamento IVD-R (UE)2017/746:	
Secções adicionadas	Número BSI 2797, Utilizador previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite do branco e limite de deteção, Informações adicionais, Histórico de revisões.
Informações adicionadas	Consulte as secções Limitações
Atualizações à fraseologia ou tipografia	Consulte as secções Procedimento, Realização, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Secções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Secções atualizadas	Utilização prevista, Classificação de perigo GHS, Indícios de deterioração, Procedimento, Anexo.
REVISÃO	Data de lançamento
AX	
Secções atualizadas	Adicionar cazaque
Secções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (número do documento B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD79a
Klon	HM47
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobulin	IgG1
Arter	Mus
Oprensning	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Allophycocyanin (APC)
Molarforhold	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ-magnetisering	633/638 nm
Emissionsspids	660 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA og 0,1% NaN ₃

IOTest

Konjugeret antistof CD79a-APC

[REF] B36287 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

Til *in vitro*-diagnostisk brug

TILSIGTET BRUG

Dette fluorokromkonjugerede antistof muliggør, ved hjælp af flowcytometri, kvalitativ og ikke-automatiseret identifikation af cellepopulationer, der udtrykker CD79a-antigenet, som findes i humane biologiske prøver (se afsnittet "Prøver" forneden).

PRINCIP

Denne test er baseret på specifikke monoklonale antistoffers evne til at binde sig til de antigeniske determinanter, der udtrykkes af leukocyutter.

Der fremkaldes permeabilitet i cytoplasmatiske leukocytmembraner til påvisning af intracellulære, antigeniske determinanter ved hjælp af monoklonale fluorescerende antistoffer. Leukocytterne analyseres derefter med flowcytometri.

Flowcytometeret mäter lyssets diffusion og cellernes fluorescens. Dette gør det muligt at afgrænse interessepopulationen inden for det elektroniske vindue, der defineres på et histogram, som korrelerer den ortogonale diffusion af lys (Side Scatter (sidespredning) eller SS) og diffusionen af lys med en snæver vinkel (Forward Scatter (forlæns spredning) eller FS). Andre histogrammer, der kombinerer to af de forskellige parametre, der er til rådighed på cytometret, kan benyttes som støtte under gating-trinnet, afhængig af den af brugerne valgte applikation.

De afgrænsede cellers fluorescens analyseres med henblik på at kunne skelne de positive farvningshændelser fra de ufarvede. Resultaterne udtrykkes som en procentdel af positive hændelser i relation til alle de hændelser, som erhverves ved gatingen.

TILSIGTET BRUGER

Dette produkt er beregnet til professionel brug i laboratoriet.

KLINISK RELEVANS

CD79a-APC er et CD79a-antistof, der anvendes til at identificere og karakterisere celler, der udtrykker CD79a-antigenet ved flowcytometri. Dette produkt, anvendt alene, kan ikke og er ikke beregnet til at generere nogen diagnostisk konklusion.

Anvendt i kombination med andre markører, kan dette produkt benyttes i en eller flere af følgende funktioner:

- Til hjælp ved differentialdiagnosticering af hæmatologisk unormale patienter ved formodning om hæmatopoietisk neoplaesi, samt til monitorering af patienter med kendt hæmatopoietisk neoplaesi.

Se følgende referencer:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Prøver af venøst blod skal udtages i sterile prøverør, der indeholder et EDTA-salt som antikoagulant.

Prøverne skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og må ikke rystes. Prøverne skal homogeniseres ved forsiktig omrysten før udtagning af analyseprøven.

Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter venepunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analysecertifikat på www.beckman.com.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.
2. Må ikke nedfryses.
3. Bring det til stuetemperatur (18-25 °C) før brug.
4. Minimér eksponering for lys.
5. Undgå mikrobiel kontaminering reagenserne, idet det kan føre til fejlagtige resultater.
6. Antistofopløsninger, der indeholder natriumazid (NaN₃), skal håndteres med forsigtighed. Må ikke indtages, og undgå enhver kontakt med hud, slimhinder og øjne.

- I syremedier kan natriumazid desuden danne den potentieligt farlige hydrogenazid. Hvis det skal bortskaffes, anbefales det, at reagenset fortyndes i en stor mængde vand, inden det hældes i kloakken, for at undgå ophobning af natriumazid i metalrør og dermed forebygge risikoen for ekspløsioner.
7. Alle blodprøver skal anses som potentielt smittefarlige og skal behandles forsigtigt (husk især at bruge beskyttelseshandsker, forklæde og beskyttelsesbriller).
 8. Sug aldrig med munnen, og undgå at prøverne kommer i kontakt med hud, slimhinde og øjne.
 9. Blodprøvetagningsrør og engangsmateriale, der bruges i forbindelse med håndteringen, skal bortskaffes i ad hoc-beholdere, der er beregnet til bortskaffelse.
 10. Reagenser og affald skal bortskaffes i henhold til gældende lokale krav.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig



Sikkerhedsdatablad findes på beckman.com/techdocs

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Dette reagens skal opbevares ved mellem 2 og 8 °C og beskyttes mod lys før og efter, at hætteglasset er åbnet.

Stabilitet i lukket hætteglas: 730 dage.

Stabilitet i åbent hætteglas: Reagenset er stabilt i 180 dage.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Ændringer i den måde, reagenset ser ud på, kan være tegn på forringelse, og reagenset må ikke anvendes.

Ring til Beckman Coulters kundeservice på 800-742-2345 (USA eller Canada), eller kontakt den lokale Beckman Coulter-repræsentant for at få flere oplysninger, eller hvis du modtager et beskadiget produkt.

INDHOLD

Natriumazid kan danne ekspløsive forbindelser i drænledninger af metal. Se NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (16.8.76) (Fare for ekspløsiv azid). For at undgå en eventuel akkumulering af azidforbindelser, skyldes afløbsrør med vand efter bortskaffelse af ufortyndet reagens. Natriumazid skal bortskaffes i overensstemmelse med relevante lokale forskrifter.

PÅKRÆVEDE MATERIALER, SOM IKKE LEVERES MED SÆT:

- Prøvetagningsrør og materiale, der er påkrævet til prøvetagning.
- Automatiske pipetter med engangsspidser til 10, 100 og 500 µL.
- Plasthæmolyserør.
- For at opnå optimale resultater anbefales begge følgende reagenser (følg den relaterede, specifikke procedure)
IntraPrep-fikserings-/Permeabilise-ringsreagens (ref. A07802 eller A07803)
PerFix-nc-kit (no centrifuge assay kit) til forberedelse af intra- og ekstracellulær farvning (ref. B31167 eller B31168)
- Reagens til leukocytifiksering. For eksempel: IOTest 3-fiksativ opløsning (ref. A07800).
- IsotypekontrolAPC: IOTest-reagens (ref. IM2475).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumphosphat; 0,145 M natriumchlorid; pH 7,2).
- Centrifuge
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MED PERFIX-NC-REAGENS

Nedenfor beskrives den anbefalede procedure for brug af PerFix-nc-kit (no centrifuge assay kit) til forberedelse af intra- og ekstracellulær farvning (ref. B31167 eller B31168).

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrollerne (ref. IM2475).

FORBEREDELSE AF KIT REAGENS

PerFix-nc buffer 1 og 2 reagenser

Ingen rekonstitution er nødvendig. Begge reagenser kan anvendes direkte fra hætteglasset.

Klargøring af PerFix-nc Buffer 3-reagens

Forbered improviseret det endelige 1X-reagens.

Fortynd 10X koncentreret PerFix-nc buffer 3 (endelig 10X opløsning) i afioniseret vand: 1 mængde buffer 3 med 9 mængder vand. Bland godt før brug. Det anbefales kun at forberede den mængde endelig 1X reagens, som er nødvendig til dagens forsøg.

1. Pipettér 50 µL blodprøve i bunden af hvert passende mærkede rør. Undgå at komme blod på rørets side. Ellers vil det ikke blive behandlet korrekt.
2. Pipettér 5 or 25 µL af fiksativ-reagenset til hvert prøverør afhængigt af, om der kræves en lav eller høj fiksering (se brugsanvisningen til PerFix-nc for yderligere oplysninger om protokoller for lav/høj fiksering).
3. Vortexbland straks, og inkubér i 15 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C).
4. Ryst det fikserede blod igen, og tilføj 300 µL permeabiliseringe reagens til hvert rør. Ryst øjeblikkeligt.
5. Tilføj øjeblikkeligt 10 µL fluorokrom-konjugerede antistoffer mod intracellulære epitoper og overflademolekyler (antistofferne kan alternativt forblandes i det permeabiliseringe reagens og tilsættes helt til slut i fikseringstrinnet).

- Ryst øjeblikkeligt, og lad inkubere i 15 - 30 minutter ved rumtemperatur.
- Tilføj 3 mL endelig 1X reagens (forberedt af 10X koncentreret endelig oplosning) til hver rør; ryst øjeblikkeligt; nu er prøven klar til analyse på et flowcytometer.

BEMÆRK: præparererne kan opbevares i 24 timer før den cytometriske analyse. Det tilrådes at opbevare dem ved 2 – 8 °C og beskyttet mod lys.

PROCEDURE MED INTRAPREP-REAGENS

I det følgende beskrives den anbefalede procedure til brug med IntraPrep-fikserings-/ permeabiliseringssreagens (ref. A07802 eller A07803).

Der kan tilføjes et kontrolrør for hvert prøverør, der analyseres, hvormed cellerne blandes under isotype-kontrolle (ref. IM2475).

Der opnås optimal farvning for en blodprøve ved hjælp af et antal leukocytter mellem 3 og 10×10^3 celler / μL . Hvis leukocytkoncentrationen er større end 10×10^3 celler / μL , skal den fortyndes (11).

- Tilsæt 50 μL blod, udtaget i EDTA-rør, til hvert prøverør.
- Tilføj 100 μL IntraPrep-reagens 1 (Fiksering) til hvert rør.
- Vortexbland rørene kraftigt i 3 til 5 sekunder.
- Inkubér i 15 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
- Tilsæt 4 mL PBS i hvert prøverør.
- Centrifugér i 5 minutter ved 300 x g ved stuetemperatur. Fjern supernatanten via aspiration.
- Tilsæt 100 μL af IntraPrep-reagens 2 (permeabilisering) til hvert rør. Bland via diffusion. UNDLAD AT VORTEXE.
- Inkuber i 5 minutter ved stuetemperatur uden omrystning.
- Omryst rørene manuelt og omhyggeligt i 2 til 3 sekunder.
- Tilføj 10 μL specifik IOTest-konjugeret antistof til hvert prøverør og, om nødvendigt, 10 μL negativ kontrol til hvert kontrolprøverør.
- Inkubér i 15 til 20 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C), beskyttet mod lys.
- Tilsæt 4 mL PBS, og centrifugér i 5 minutter ved 300 x g ved stuetemperatur.
- Fjern supernatanten ved aspiration og resuspender cellepelletten i 0,5 til 1 mL IOTest 3-fiksativopløsning (Ref. A07800) i arbejdskoncentrationen (1x).
- Præparererne er klar til cytometrisk analyse.

BEMÆRK: hvis præparererne opbevares i mere end 2 timer før den cytometriske analyse, tilrådes det at opbevare dem ved 2 – 8 °C og beskyttet mod lys. Lad dog ikke præparererne være opbevaret på denne måde i mere end 24 timer.

FORVENTEDE VÆRDIER

I vores laboratorier blev fuldblodsprøver, fra 25 umiddelbart raske donorer, behandlet med det ovenfor beskrevne reagens. De opnåede resultater for optælling af relevante positive hændelser med dette reagens er angivet i nedenstående tabel:

PerFix-nc lyseringssystem:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocyetter	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep lyseringssystem:

Positivt mål	Antal	Middelværdi (%)	SD	CV (%)
Lymfocyetter	25	10,02	4,03	40,19

Disse værdier er beregnet til kun at være repræsentative. Hvert laboratorium bør fastlægge deres egne forventede værdier fra den lokale population af raske donorer.

YDEEVNE

Prästationsdata opnås, når proceduren beskrevet foroven, anvendes på mindre end 24 timer gamle blodprøver, tidligere indsamlet i sterile prøverør med EDTA-salt som antikoagulant. Analyse skal foretages senest 2 timer efter immunfarvning.

SPECIFICITET

CD79a-molekylet er en del af den CD79a / CD79b disulfidsammenkædede heterodimer, der er ikke-kovalent bundet til overflade immunoglobuliner, så der danner B celle receptorer (BCR) (12). Udtrykkelsen af CD79a viser sig tidligt i B-cellernes ontogenesen og dets lokalisering i pro-B stadiet er derfor cytoplasmisk. Senere er CD79a en del af BCR. Dets membrane udtryk varer indtil den plasmocytiske fase. I denne fase bliver dets lokalisering igen cytoplasmisk (13).

MAb HM47 reagerer med en intracytoplasmatiske epitop af CD79a-molekylet (13). Det blev tildelt CD79a på den 5. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA-workshop om differentiering af humane leukocyt-antigener), der blev afholdt i Boston, USA, i 1993 (WS-kode: cB017, afsnit B) (13).

PRÆCISION

De procentvise positive værdier blev bestemt ved anvendelse af fuldblod. Hver prøve blev kørt 4 gange, to gange dagligt i 1 dag, på 2 instrumenter med CD79a-APC monoklonale antistofreagenser fra 2 lots. Målingerne (% positiv) blev foretaget på Navios-flowcytometer. Analysen blev udført i henhold til CLSI-protokollen EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering af kvantitative målemetoders præcisionsevne).

Vores acceptkriterier afhænger af antallet af positive hændelser målt for hver population:

- Hvis positiv hændelse < 1500, CV < 15%
- Hvis positiv hændelse > 1500, CV < 10%

PerFix-nc lyseringssystem:

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 1026							
	Inter-operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep lyseringssystem:

Lymfocytter							
Antal positive hændelser (middelværdi) = 880							
	Inter-operator	Inter-cytometer	Intra-lot	Inter-lot	Inter-kørsel	Intra-kørsel	I alt
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØJAGTIGHED

Nøjagtigheden af CD79a-APC blev vurderet ved sammenligning af resultaterne med et referencereagens som prædikat på et sæt fuldblodsprøver, kørt på et Navios-flowcytometer. Bias mellem test- og referencereagens blev bestemt på basis af forskellen mellem testresultaterne. Hvis bias er inden for det tilladte fejloråde, eller hvis p-værdien ikke indikerer nogen signifikant forskel ($> 0,05$), anses testresultaterne for de to reagenser for at være ækvivalente.

De opnåede resultater opsummeres i nedenstående tabel:

PerFix-nc lyseringssystem:

Antal donorer = 25							
Positivt mål	Middelværdi Δ		Δ % cellekriterie		p-værdi	RESULTATER	
Lymfocytter	0,32		<3		0,005	PASS	

IntraPrep lyseringssystem:

Antal donorer = 25							
Positivt mål	Middelværdi Δ		Δ % cellekriterie		p-værdi	RESULTATER	
Lymfocytter	0,09		<3		0,659	PASS	

GRÆNSE FOR BLANK OG DETEKTIONSGRÆNSE

En undersøgelse blev gennemført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering af detektionsevne for kliniske laboratoriemåleprocedurer). Detektionsgrænsen (LOD) er den laveste koncentration af analyt, der kan detekteres konsekvent. De opnåede resultater er opsummeret i nedenstående tabel:

PerFix-nc lyseringssystem:

Positive Target	Grænse for blank (celle/ μ L)		Detektionsgrænse (celle/ μ L)		
Lymfocytter	0		4		

IntraPrep lyseringssystem:

Positive Target	Grænse for blank (celle/ μ L)		Detektionsgrænse (celle/ μ L)		
Lymfocytter	1		2		

BEGRÆNSNINGER

- Flowcytometri kan give forkerte resultater, hvis cytometeret ikke er perfekt justeret, hvis der ikke er blevet kompensert korrekt for fluorescenslækager, eller hvis områderne ikke er blevet placeret omhyggeligt.
- Der genereres nøjagtige og reproducerbare resultater, så længe de anvendte procedurer er i overensstemmelse med de tekniske anvisninger på indlægsstedslen og god laboratoriepraksis.
- Det konjugerede antistof for dette reagens kalibreres for at kunne tilbyde det bedste forhold mellem signal/ikke-specifikt signal. Det er derfor vigtigt at overholde forholdet mellem reagensvolumen og prøvevolumen i hver enkelt test.
- I tilfælde af en hyperleukocytose skal blodet fortyndes i PBS for at opnå en værdi på ca. 5×10^9 leukocytter/L (11).
- I visse sygdomstilstande, f.eks. alvorligt nyresvigt eller hæmoglobinopatier, kan lysering af røde celler være langsom, ufuldstændig eller endog umulig. I dette tilfælde anbefales det at isolere enkerne celler ved hjælp af en densitetsgradient (f.eks. Ficoll) forud for farvningen (14).
- Hos patienter behandlet med anti-humanne monoklonale antistofferterapi, kan påvisning af de respektive specifikke antigener være formindsket eller fraværende, på grund af delvis eller fuldstændig blokering af det terapeutiske antistof.
- CD79a-APC-resultaterne bør fortolkes i lyset af patientens samlede kliniske præsentation, herunder symptomer, sygehistorie, data fra andre tests samt anden relevant information.

Se Tillæg for eksempler og referencer.

VAREMÆRKER

Beckman Coulter, det stiliserede logo og de Beckman Coulter produkt- og servicemærker, der er omtalt heri, er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Beckman Coulter, Inc. i USA og andre lande.

YDERLIGERE OPLYSNINGER

For en patient;bruger/tredjepart i Den Europæiske Union og i lande med identisk lovgivningsmæssig reguleringsordning (forordning 2017/746/EU om medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik); hvis der er sket en alvorlig hændelse under brugen af dette apparat eller som et resultat af dens anvendelse, skal du rapportere den til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til din nationale myndighed.

Summary of Safety and Performance (Sammenfatning af Sikkerhed og Ydeevne) er tilgængeligt fra EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVISION AC:	Frigivelsesdato: Oktober 2019
--------------	-------------------------------

REVISION	Udgivelsesdato
AW	Februar 2022
Opdateringer for at sikre overholdelse af Beckman Coulters globale mærkningspolitik og overensstemmelse med IVD-R (EU)2017/746:	
Tilføjede afsnit	BSI 2797-nummer, Tilsigtet bruger, Klinisk relevans, Koncentration, Präcision, Nøjagtighed, Grænse for blank og detektionsgrænse, Yderligere oplysninger, Revisionshistorik.
Tilføjet information	Se afsnittet Begrænsninger
Opdatering af formulering eller typografi	Se afsnittene Procedure, Præstation, Begrænsninger, Advarsel og forholdsregler, Opbevaring og Holdbarhed.
Fjernede afsnit	Eksempel på klinisk anvendelse, Reagenser, Intra-laboratorie reproducerbarhed, Linearitet
Opdaterede afsnit	Tilsigtet brug, GHS-fareklassifikation, Tegn på forringelse, Procedure, Tillæg.

REVISION	Udgivelsesdato
AX	
Opdaterede afsnit	Kasakhisk er blevet tilføjet
Opdaterede afsnit	Opbevaring og holdbarhed

Symbolnøgle

En ordliste over symboler findes på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Specifikationer
Specificitet	CD79a
Klon	HM47
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunglobulin	IgG1
Arter	Mus
Rening	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Allophycocyanin (APC)
Molförhållande	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitering	633/638 nm
Emissionstopp	660 nm
Buffert	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA och 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugerad antikropp

CD79a-APC

[REF] B36287 100 tester; 1 mL, 10 µL / test

För *in vitro*-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

Denna fluorokromkonjugerade antikropp möjliggör kvalitativ och ej automatiserad identifiering av cellpopulationer som uttrycker CD79a-antigenet som förekommer i humana biologiska prover med användning av flödescytometri (se avsnittet "Prov" nedan).

PRINCIP

Detta test är baserat på förmågan hos specifika monoklonala antikroppar att bindas till de antigena determinanter som uttrycks av leukocyter.

Permeabiliteten induceras i de cytoplasmiska membranen av leukocyter för demonstration av intracellulära antigena determinanter med hjälp av monoklonala fluorescerande antikroppar. Leukocyterna analyseras sedan med flödescytometri.

Flödescytometern mäter ljusdiffusion och fluorescens av celler. Det möjliggör avgränsningen av populationen av intresse i det elektroniska fönstret definierat i ett histogram, som korrelerar den rätvinkliga ljusspridningen (sidospridning eller SS) och spridningen av snävt ljus (framåtspridning eller FS). Andra histogram som kombinerar två av de tillgängliga parametrarna på cytometern, kan användas som stöd i gating-skedet beroende på tillämpningen som användaren har valt.

Fluorescensen av de begränsade cellerna analyseras för att skilja ut positivt färgade händelser från ofärgade händelser. Resultaten uttrycks som en procentandel av positiva händelser i relation till alla händelser som samlats in med hjälp av gating.

AVSEDD ANVÄNDARE

Denna produkt är avsedd för yrkesmässig laboratorieanvändning.

KLINISK RELEVANS

CD79a-APC är en CD79a-antikropp som används för att identifiera och egenskapsbestämma celler som uttrycker CD79a-antigenen med hjälp av flödescytometri. Denna produkt kan inte och är inte avsedd för att ta fram en diagnostisk slutsats.

Vid användning i kombination med andra markörer kan denna produkt användas i en eller flera av följande funktioner:

- Som hjälp vid differentialanalys av hematologiskt onormala patienter som misstänks ha hematopoetisk neoplasmi eller för övervakning av patienter med känd hematopoetisk neoplasmi.

Se följande referenser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROV

Venblod måste tas i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant.

Proverna bör förvaras i rumstemperatur (18–25 °C) och inte skakas. Prover bör vara homogeniseraade genom försiktig omrörning innan provet tas.

Proverna måste analyseras inom 24 timmar efter venpunktur.

KONCENTRATION

Se lotspecifikt analyscertifikat på www.beckman.com.

WARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Använd inte reagenset efter utgångsdatumet.
2. Får ej frysas.
3. Låt den komma till rumstemperatur (18–25 °C) före användning.
4. Minimera exponering för ljus.
5. Undvik mikrobiell kontaminering av reagens. Det kan leda till felaktiga resultat.
6. Antikroppslösningar som innehåller natriumazid (NaN₃) bör hanteras med försiktighet. Inta inte internt och undvik all kontakt med hud, slemhinnor och ögon.

I syramedium kan natriumazid dessutom bilda potentiellt farlig hydrazinsyra. Om reagensen måste kasseras rekommenderar vi att den späds ut med en stor volym vatten innan den hälls ut i avloppssystemet för att undvika explosionsrisk och att natriumazid ackumuleras i metallrören.

7. Alla blodprover måste betraktas som potentiellt smittsamma och ska hanteras med försiktighet (i synnerhet vad gäller användande av skyddshandskar, rockar och skyddsglasögon).
8. Pipettera aldrig med munnen och se till att proverna inte kommer i kontakt med hud, slemhinnor och ögon.
9. Blodprovsrör och engångsmaterial som används för hantering ska kasseras i särskilda behållare avsedda för förbränning.
10. Reagens och avfall ska kasseras i enlighet med lokala krav.

RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej klassat som farligt



Safety Data Sheet (Säkerhetsdatablad) finns på beckman.com/techdocs

FÖRVARING OCH STABILITET

Detta reagens måste hållas mellan 2 och 8 °C och skyddas mot ljus, före och efter att ampullen öppnats.

Hållbarhet för sluten ampull per stabilitetsstudie: 730 dagar.

Stabilitet i öppen ampull: reagenset är stabilt i 180 dagar.

TECKEN PÅ FÖRSÄMRING

Alla förändringar i reagensens fysiska utseende kan indikera försämring och att reagenset inte ska användas.

För mer information eller om en skadad produkt tas emot, ring Beckman Coulter kundtjänst på 800-742-2345 (USA eller Kanada) eller kontakta din lokala Beckman Coulter-representant.

INNEHÅLL

Konserveringsmedlet natriumazid kan bilda explosiva föreningar i avloppsledningar av metall. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (76-8-16) (Bulletin från den amerikanska motsvarigheten till arbetsmiljöverket: Fara för azidexplosion).

För att undvika risken för ansamling av azidföreningar ska avloppsrören spolas igenom med vatten efter att outspädda reagenser har kasserats. Kassering av natriumazid måste ske i enlighet med tillämpliga lokala regler.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE FÖLJER MED KITET:

- Provrör och nödvändigt material för provtagning.
- Automatiska pipetter med engångsspetsar för 10, 100 och 500 µL.
- Hemolysrör av plast.
- För att erhålla maximala resultat, rekommenderas endera av följande reagenser (följ relaterad specifik procedur):
IntraPrep dixerings/permeabilitetsreagens (Ref A07802 eller A07803)
PerFix-nc-Kit (no centrifuge assay kit), för intra- och extracellulära färgningförberedelser (Ref B31167 eller B31168)
- Reagens för leukocytfixering. Till exempel: IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800).
- Isotyp-kontroll APC: IOTest-reagens (ref. IM2475).
- Buffert (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Centrifugera.
- Automatisk omrörare (Vortex-typ).
- Flödescytometer.

PROCEDUR MED PERFIX-NC-REAGENS

Nedan är den rekommenderade användningsproceduren för PerFix-nc-kitet (analyskit utan centrifugering) för intra- och extracellulär färgningsberedning (ref B31167 eller B31168).

För varje analyserat prov kan förutom provrören ett kontrollprov rör läggas till i vilket cellerna blandas i närvaro av isotypkontrollerna (ref. IM2475).

BEREDNING AV REAGENSKITET

PERFIX-nc buffert 1 och 2 - reagenser

Ingen rekonstituering krävs. Båda reagensen kan användas direkt ur ampullen.

Beredning av PerFix-nc-buffert 3

Förbered extemporerat den slutliga 1X-reagensen.

Späd 10X Koncentrerad PerFix-nc Buffert 3 (slutlig 10X-lösning) i avjoniserat vatten: En volymdel Buffert 3 med 9 volymdelar vatten. Omskakas väl före användning. Vi rekommenderar att förbereda endast volymen slutlig 1 X reagens som krävs för dagens experiment.

1. Pipettera 50 mikroliter av blodprov i botten av varje lämpligt märkt rör. Undvik att lägga lite blod på sidan av röret, annars kommer det inte att behandlas på lämpligt sätt.
2. Pipettera 5 or 25 µL fixeringsreagens i varje provrör beroende på om låg eller hög fixering krävs (se bruksanvisningen för PerFix-nc för information om fixeringsprotokoll för låg/hög fixering).
3. Vortexa omedelbart och inkubera i 15 minuter i rumstemperatur (18–25 °C).
4. Rör återigen om det fixerade blodet och tillsätt 300 µL Permeabilizing reagens i varje rör; rör om omedelbart.

5. Tillsätt omedelbart till varje rör 10 µL fluorokrom-konjugerade antikroppar mot intracellulära epitoper och ytmolekyler (alternativt så kan antikropparna vara förblandade i permeabiliseringssreagensen och ha lagts till alldeles i slutet av fixeringssteget).
6. Rör om omedelbart och inkubera i 15 - 30 min vid rumstemperatur.
7. Tillsätt 3 mL av den slutliga 1 X reagensen (beredd från 10 X koncentrerad slutlig lösning) till varje rör; rör om omedelbart. provet är nu klar för analys i en flödescytometer.

OBS: Preparaten kan lagras i 24 timmar före cytometrisk analys, det är lämpligt att förvara dem vid 2-8 °C och skydda dem från ljus.

PROCEDUR MED INTRAPREP-REAGENS

Nedanför den rekommenderade proceduren för att användas med IntraPrep fixerings/ permeabiliseringssreagens (Ref. A07802 eller A07803).

För varje analyserat prov kan förutom provröret ett kontrollprov rör läggas till i vilket cellerna blandas i närvärta av isotypkontrollerna (ref. IM2475).

För ett blodprov, erhålls optimal färgning med hjälp av ett antal leukocyter på mellan 3 och 10×10^3 celler/mikroliter. Om leukocytkoncentrationen är större än 10×10^3 celler/mikroliter, späd (11).

1. Tillsätt 50 µL blod taget i EDTA-rör till varje provrör.
2. Tillsätt till varje rör 100 mikroliter med IntraPrep-reagens 1 (fixering).
3. Vortexblanda provrören försiktigt i 3 till 5 sekunder.
4. Inkubera i 15 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
5. Tillsätt 4 mL av PBS i varje provrör.
6. Centrifugera i 5 minuter vid 300 x g vid rumstemperatur. Avlägsna ytskiktet genom aspiration.
7. Tillsätt 100 µL av IntraPrep-reagens 2 (permeabilisering) till varje provrör. Blanda genom diffusion. VORTEXBLANDA INTE.
8. Inkubera i 5 minuter vid rumstemperatur och skyddat mot ljus.
9. Skaka rören försiktigt för hand i 2 till 3 sekunder.
10. Tillsätt 10 µL av specifik IOTest-konjugerad antikropp till varje provrör och vid behov 10 µL av isotypkontroll till varje kontrollprov rör.
11. Inkubera i 15 till 20 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C) och skyddat mot ljus.
12. Tillsätt 4 mL av PBS och centrifugera i 5 minuter vid 300 x g vid rumstemperatur.
13. Avlägsna ytskiktet med aspiration och suspendera cellpelleten i 0,5 till 1 mL av IOTest 3-fixeringslösning (ref. A07800) i dess användningskoncentration (1X).
14. Preparaten är redo för cytometrisk analys.

OBS! Om de beredda proverna skall stå i mer än 2 timmar innan de analyseras med cytometri, bör man förvara dem mörkt och vid 2-8 °C. Även om de beredda proverna förvaras på detta sätt håller de sig dock inte mer än 24 timmar.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

I våra laboratorier behandlades helblodsprov från 25 till synes friska donatorer med den reagens som beskrivs ovan. Erhållna resultat för antalet positiva händelser av intresse med denna reagens anges i tabellen nedan:

PerFix-nc lyseringssystem:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep lyseringssystem:

Positivt mål	Nummer	Medelvärde (%)	SD	CV (%)
Lymfocyter	25	10,02	4,03	40,19

Dessa värden är endast avsedda att vara representativa. Varje laboratorium ska fastställa sina egna förväntade värden utifrån den lokala populationen med normala donatorer.

PRESTANDA

Prestandadata erhålls med proceduren som beskrivs ovan på blodprov som är färskare än 24 timmar som tagits i sterila provrör med EDTA-salt som antikoagulant. Analys utförs inom 2 timmar efter immunfärgning.

SPECIFICITET

CD79a-molekylen ingår i den disulfidkopplade CD79a/CD79b-heterodimeren, som binds icke-kovalent till yttimmunglobuliner så att det bildas B-cellsreceptorer (BCR) (12). Uttrycket av CD79a uppträder tidigt i B-cellernas ontogeni och på pro-B-stadiet är det därför lokaliserat till cytoplasman. Senare kommer CD79 att utgöra en del av BCR. Proteinet förblir lokaliserat till cellmembranet fram till plasmacellsstadiet, då det på nytt lokaliseras till cytoplasman (13).

MAb HM47 reagerar med en intracytoplasmatisk epitop på CD79a-molekylen (13). Att antikroppen binder till CD79a fastställdes vid 5th HLDA Workshop (Human Leucocyte Differentiation Antigens), som hölls i Boston, USA år 1993 (WS-kod: cB017, Avsnitt B) (13).

PRECISION

Procentvärdet för positiva värden bestämdes med helblod. Varje prov körs 4 gånger, två gånger om dagen under 1 dag på 2 instrument med 2 loter CD79a-APC monoklonala antikropsreagens. Mätningar (% positiva) utfördes på Navios flödescytometer. Analys utfördes baserat på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Utvärdering av precisionsprestanda för kvantitativa mätmetoder).

Våra acceptanskriterier beror på antalet positiva händelser som uppmäts för varje population:

- Om positiv händelse < 1 500, CV < 15 %
- Om positiv händelse > 1 500, CV < 10 %

PerFix-nc lyseringssystem:

Lymfocyt							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 1026							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan köringar	Inom köring	Totalt
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep lyseringssystem:

Lymfocyt							
Antal positiva händelse (medelvärde) = 880							
	Mellan operatörer	Mellan cytometrar	Inom lot	Mellan loter	Mellan köringar	Inom köring	Totalt
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTAT	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NOGGRANHET

Noggrannheten hos CD79a-APC bedömdes genom att jämföra resultaten med en referensreagens som predikat på en uppsättning helblodsprov körd på en Navios flödescytometer. Bias mellan test- och referensreagens bestämdes baserat på skillnaden mellan testresultat. Om bias ligger inom tillåtet felintervall eller p-värdet anger att det inte finns någon signifikant skilnad ($> 0,05$), så anses testresultaten för de två reagenserna vara likvärdiga.

Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell nedan:

PerFix-nc lyseringssystem:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyt	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep lyseringssystem:

Antal donatorer = 25				
Positivt mål	Medelvärde Δ	Δ % cellkriterier	p-värde	RESULTAT
Lymfocyt	0,09	<3	0,659	PASS

BLANKGRÄNS OCH DETEKTIONSGRÄNS

En studie genomfördes i enlighet med CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Utvärdering av detekteringsförmåga för kliniska laboratoriemätningsprocedurer). Detektionsgräns (LoD) är den lägsta analytkoncentrationen som konsekvent kan detekteras. Resultaten som erhålls sammanfattas i följande tabell:

PerFix-nc lyseringssystem:

Positive Target	Blankgräns (cell/ μ L)	Detektionsgräns (cell/ μ L)
Lymfocyt	0	4

IntraPrep lyseringssystem:

Positive Target	Blankgräns (cell/ μ L)	Detektionsgräns (cell/ μ L)
Lymfocyt	1	2

BEGRÄNSNINGAR

- Flödescytometri kan ge falska resultat om cytometern inte har justerats perfekt, om fluorescensläckor inte har kompenserats korrekt och om regionerna inte har placerats noggrant.
- Noggranna och reproducerbara resultat kommer att erhållas så länge de förfaranden som används är i enlighet med den tekniska bipacksedeln och förenliga med god laboratoriepraxis.
- Den konjugerade antikroppen för detta reagens är kalibrerad för att erbjuda det bästa specifik signal/icke-specifik signal-förhållandet. Därför är det viktigt att följa reagensvolym/provvolym-förhållandet i varje test.
- Vid hyperleukocytos, späd blodet i PBS för att erhålla ett värde på cirka 5×10^9 leukocyter/l. (11).
- Vid vissa sjukdomstillstånd, såsom vid mycket svår njursvikt eller hemoglobinopatier, kan lysering av röda celler vara långsam, ofullständig eller till och med omöjlig. I detta fall är det rekommenderat att isolera mononukleära celler med användning av en densitetsgradient (till exempel Ficoll) innan färgningen (14).
- Hos patienter som behandlas med anti-human monoklonala antikroppar kan detektering av de specifika eftersökta antigenerna minska eller uteblå på grund av delvis eller fullständig blockering från behandlingens antikropp.
- Resultat för CD79a-APC bör tolkas med tanke på patientens totala kliniska bild, inklusive: symptom, anamnes, information från övriga test och annan lämplig information.

Se bilagan för exempel och referenser.

VARUMÄRKEN

Beckman Coulter, den stiliserade logotypen och Beckman Coulters produkt- och tjänstmärken som nämns här är varumärken eller registrerade varumärken som tillhör Beckman Coulter, Inc. i USA eller andra länder.

YTTERLIGARE INFORMATION

För en patient/användare/tredje part inom EU och i länder med identiskt regelsystem (förordning 2017/746/EU om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik); om, vid användning av denna enhet eller som ett resultat av dess användning, en allvarlig incident inträffat ska den rapporteras till tillverkaren och/eller till dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Summary of Safety and Performance (Sammanfattning av säkerhet och prestanda) finns tillgänglig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISIONSHISTORIK

REVIDERING AC:	Publiceringsdatum: Oktober 2019
REVISION	Publiceringsdatum
AW	Februari 2022
Uppdateringar för att uppfylla Beckman Coulter globala etiketteringspolicy och kraven i IVD-R (EU)2017/746:	
Tillagda avsnitt	BSI 2797 Nummer, Avsedd användare, Klinisk relevans, Koncentration, Precision, Noggrannhet, Blankgräns och detektionsgräns, Ytterligare information, Revisionshistorik.
Tillagd information	Se avsnittet Begränsningar
Ordval eller typografiska uppdateringar	Se avsnitten Procedur, Prestanda, Begränsningar, Varningar och försiktighestsåtgärder, Förvaring och stabilitet.
Borttagna avsnitt	Exempel på kliniska tillämpningar, Reagens, Reproducerbarhet inom laboratorium, Linearitet
Uppdaterade avsnitt	Avsedd användning, Faroklassificering enligt GHS, Tecken på försämring, Procedur, Bilaga.
REVISION	Publiceringsdatum
AX	
Uppdaterade avsnitt	Lägg till kazakiska
Uppdaterade avsnitt	Förvaring och hållbarhet

Teckenförklaring för symboler

Ordlista för symboler finns på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Spesifikasjoner
Spesifisitet	CD79a
Klon	HM47
Hybridom	NS1 x balb/c
Immunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobulin	IgG1
Art	Mus
Rensing	Affinitetskromatografi
Fluorokrom	Allophycocyanin (APC)
Molart forhold	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ-eksitasjon	633/638 nm
Strålingstopp	660 nm
Buffer	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/mL BSA og 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugert antistoff

CD79a-APC

[REF] B36287 100 tester; 1 mL, 10 µL / test

For *in vitro*-diagnostisk bruk

TILTENKT BRUK

Dette fluorokromkonjugerte antistoffet muliggjør kvalitativ og ikke-automatisert identifisering av cellepopulasjoner som uttrykker CD79a-antigenet som finnes i humane biologiske prøver, ved hjelp av flowcytometri (se avsnittet «Prøver» nedenfor).

PRINSIPP

Denne testen er basert på evnen spesifikke monoklonale antistoffer har til å binde seg til antigendeterminantene uttrykt av leukocyter.

Permeabilitet induseres i leukocyters cytoplasmiske membraner for å påvise intracellulære antigenetiske determinanter ved bruk av monoklonale fluorescerende antistoffer. Leukocytene blir deretter analysert ved hjelp av strømningscytometri.

Flytcytometeret mäter lysdiffusjon og cellenes fluorescens. Det gjør det mulig å avgrense populasjonen som skal undersøkes innenfor det elektroniske vinduet som er definert på et histogram, og som korrelerer den ortogonale lysspredningen (sidespredning eller SS) og spredningen av trangvinklet lys (foroverpredning eller FS). Andre histogrammer som kombinerer to av de ulike parametrerne på cytometeret kan brukes som støtte ved gatingstadiet, avhengig av programmet som velges av brukeren.

Fluorescensen i de avgrensede cellene analyseres for å skille de positivt fargeide hendelsene fra de ufargeide. Resultatene er uttrykt som en prosentandel positive hendelser i forhold til alle hendelser innhentet ved gatingen.

TILTENKT BRUKER

Dette produktet skal brukes av profesjonelle brukere på laboratorier.

KLINISK RELEVANS

CD79a-APC er et CD79a-antistoff som brukes til å identifisere og karakterisere celler som uttrykker CD79a-antigenet, ved hjelp av flowcytometri. Dette produktet alene kan ikke og er ikke ment å generere en diagnostisk konklusjon.

Når dette produktet brukes i kombinasjon med andre markører, kan det brukes i én eller flere av følgende funksjoner:

- For å bistå ved differensialdiagnostisering av hematologisk unormale pasienter med mistenkt hematopoietisk neoplasie og følge opp pasienter med kjent hematopoietisk neoplasie.

Se følgende referanser:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRØVER

Veneblod må tas ved bruk av sterile rør som inneholder EDTA-salt som antikoagulant.

Prøvene skal oppbevares i romtemperatur (18–25 °C) og ikke ristes. Prøvene skal homogeniseres ved forsiktig risting før du tar testprøven.

Prøvene må analyseres innen 24 timer etter venepunksjon.

KONSENTRASJON

Se lot-spesifikt analysesertifikat på www.beckman.com.

ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

1. Reagenset må ikke brukes etter utløpsdatoen.
2. Må ikke fryses.
3. La det nå romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
4. Bør ikke utsettes for lys.
5. Unngå mikrobiell kontaminering av reagensene, ellers kan det gi feil resultater.
6. Antistofffløsninger som inneholder natriumazid (NaN₃), skal håndteres med forsiktighet. Ikke til innvortes bruk. Unngå all kontakt med hud, slimhinner og øyne.

Videre kan natriumazid i et syremedium danne potensielt farlig hydrogenazid. Hvis reagenset må kasseres, anbefales det at det fortynnes i store mengder vann før det tømmes i avløpssystemet, slik at man unngår opphopning av natriumazid i metallrør, og for å hindre ekspljosjonsfare.

7. Alle blodprøver må betraktes som potensielt smittefarlige og må håndteres med forsiktighet (gjelder spesielt: bruk av vernehansker, laboratoriefrakk og vernebriller).
8. Pipetter aldri med munnen, og unngå at prøvene kommer i kontakt med huden, slimhinnene og øynene.
9. Blodprøverør og engangsmateriale som brukes til håndtering, skal kastes i beholdere beregnet for forbrenning.
10. Reagenser og avfall skal kastes i henhold til lokale krav.

GHS-FAREKLASSIFISERING

Ikke klassifisert som farlig



Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på beckman.com/techdocs

OPPBEVARING OG STABILITET

Dette reagenset må oppbevares mellom 2 og 8 °C og beskyttes mot lys før og etter at flasken er åpnet.

Holdbarhet i lukket flaske ifølge stabilitetsstudie: 730 dager.

Stabilitet for åpnet flaske: reagenset er stabilt i 180 dager.

TEGN PÅ FORRINGELSE

Endringer i reagensenes fysiske utseende kan være tegn på redusert kvalitet, og slike reagenser skal ikke brukes.

For ytterligere informasjon eller hvis produktet mottas skadet, kan Beckman Coulter kundeservice 800-742-2345 (USA og Canada) eller den lokale Beckman Coulter-representanten kontaktes.

INNHOLD

Natriumazid kan danne eksplasive blandinger i metalliske avløpsrør. Se NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (Fare for eksplasive azider) (16.8.76). For å unngå mulig opphopning av azidforbindelser må avløpsrør skyldes med vann etter avhending av ufortynnet reagens. Avfallshåndtering av natriumazid må skje i samsvar med relevante lokale forskrifter.

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED SETTET:

- Prøvetakingsrør og materiale nødvendig for prøvetaking.
- Automatiske pipetter med engangsspisser til 10, 100 og 500 µL.
- Hemolyserør av plast.
- For å oppnå optimale resultater, anbefales hver av de følgende reagensene (følg relatert spesifikk prosedyre):
IntraPrep fikserings-/permeabiliserings-reagens (Ref. A07802 eller A07803)
PerFix-nc-sett (no centrifuge assay kit), til klargjøring for intra- og ekstracellulær farging (Ref. B31167 eller B31168)
- Leukocyt-fikseringsreagens. For eksempel: IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800).
- -isotypekontroll APC: IOTest-reagens (ref. IM2475).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfat; 0,145 M natriumklorid; pH 7,2).
- Sentrifuger.
- Automatisk omrører (vortextype).
- Flytcytometer.

PROSEODYRE MED PERFIX-NC-REAGENS

Nedenfor finner du anbefalt prosedyre for bruk sammen med PerFix-nc-sett (intet sentrifugeanalyse-sett), til klargjøring for intra- og ekstracellulær farging (Ref. B31167 eller B31168).

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. IM2475).

KLARGJØRING AV REAGENSSETT

PerFix-nc Buffer 1 og 2 reagenser

Rekonstituering er ikke nødvendig Begge reagensene kan brukes direkte fra hetteglasset.

Tilberedning av reagensen PerFix-nc-buffer 3

Gjør på improvisert vis klar den endelige 1X-reagensen.

Fortynn 10X konsentrert PerFix-nc Buffer 3 (endelig 10X-løsning) i avionisert vann: Ett volum av buffer 3 med 9 volumdeler vann. Bland godt før bruk. Vi anbefaler deg å bare gjøre klar det volumet av endelig 1X-reagens som er nødvendig for dagens prøver.

1. Pipettér 50 µL blodprøve ned i bunnen av hvert av de passende merkede rørene. Unngå at blod havner på siden av røret, for da vil det ikke bli riktig behandlet.
2. Pipettér 5 or 25 µL av fiksativ reagens til hvert rør, avhengig av om det er nødvendig med lav eller høy fiksering (se instruksjonene til PerFix-nc for bruk for detaljer om protokoller for lav/høy fiksering).
3. Det røres umiddelbart om med Vortex og inkuberes i 15 minutter i romtemperatur (18 – 25 ° C).
4. Rist igjen det festede blodet og tilsett 300 µL permeabilisering reagens til hvert rør; rist umiddelbart.

5. Tilfør umiddelbart til hvert rør 10 µL fluorkrom-konjugerte antistoffer mot intracellulære epitoper og overflate-molekyler (alternativt kan antistoffene forhåndsblandes i permeabiliseringens reagens og tilsettes helt mot slutten i fikseringstrinnet).
6. Rist umiddelbart og inkuber i 15 - 30 min ved romtemperatur
7. Tilsett 3 mL av den endelige 1X-reagensen (fremstilt fra 10X koncentrert endelig løsning) til hvert rør, rist umiddelbart - prøven er nå klar for analyse ved hjelp av et strømningscytometer.

NB!: Blandingene kan oppbevares i to timer før cytometrisk analyse, det anbefales at de oppbevares på en temperatur på mellom 24 og 8 °C og beskyttet mot lys.

PROSEDYRE MED INTRAPREP-REAGENS

Under finner du den anbefalte prosedyren for å bruke sammen med IntraPrep fikserings-/permeabiliseringss-reagens (Ref. A07802 eller A07803).

For hver prøve som analyseres, kan det i tillegg til testrøret legges til ett kontrollrør hvor cellene er blandet med tilstedeværelse av isotypekontrollen (ref. IM2475).

For en blodprøve oppnås optimal farging ved hjelp av et antall leukocyter mellom 3 og 10 x 10³ celler/µL. Dersom leukocyt-konsentrasjonen er større enn 10 x 10³ celler/µL, så fortynn (11).

1. Tilsett 50 µL blod som er testet inn i EDTA opp i hvert rør.
2. Tilsett 100 µL IntraPrep-reagens 1 (fiksering) til hvert rør.
3. Vorteks rørene kraftig i 3 til 5 sekunder.
4. Inkuber i 15 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
5. Tilsett 4 mL PBS i hvert rør.
6. Sentrifugeres i 5 minutter ved 300 x g ved romtemperatur. Fjern supernatanten ved aspirasjon.
7. Tilsett 100 µL IntraPrep-reagens 2 (permeabilisering) i hvert rør. La det blandes ved diffusjon. SKAL IKKE VORTEKSES.
8. Inkuber i 5 minutter ved romtemperatur uten risting.
9. Rist rørene forsiktig manuelt i 2 til 3 sekunder.
10. Tilsett 10 µL spesifikt IOTest-konjugert antistoff i hvert testrør og ved behov 10 µL av isotypekontrollen i hvert kontrollrør.
11. Inkuber i 15 til 20 minutter ved romtemperatur (18–25 °C), beskyttet mot lys.
12. Tilsett 4 mL PBS, og centrifugere ved 300 x g i 5 minutter ved romtemperatur.
13. Fjern supernatanten ved aspirasjon, og resuspender cellepelleten i 0,5 til 1 mL IOTest 3-fikseringsløsning (ref. A07800) ved arbeidskonsentrasjon (1X).
14. Preparatene er klare til cytometrisk analyse.

NB!: Dersom blandingene skal oppbevares i mer enn to timer før cytometrisk analyse, anbefales det at de oppbevares på en temperatur på mellom 2 og 8 °C og beskyttet mot lys. Blandingene bør imidlertid ikke oppbevares slik i mer enn 24 timer.

FORVENTEDE VERDIER

I våre laboratorier ble fullblodsprøvene fra 25 tilsluttede friske donorer behandlet med reagenset beskrevet ovenfor. Resultatene som ble oppnådd for telling av de aktuelle positive hendelsene med dette reagenset, er angitt i tabellen nedenfor:

PerFix-nc-lyseringssystem:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocyter	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep-lyseringssystem:

Positivt mål	Nummer	Gjennomsnitt (%)	SD	VK (%)
Lymfocyter	25	10,02	4,03	40,19

Disse verdiene er bare representative. Hvert enkelt laboratorium bør fastsette egne forventede verdier ut fra den lokale populasjonen av normaldonorer.

YTELSE

Ytelsesdata er fremskaffet ved bruk av prosedyren som er beskrevet ovenfor på mindre enn 24 timer gamle blodprøver som tidligere er samlet i sterile rør med EDTA-salt som antikoagulant. Analysen utføres innen 2 timer etter immunfarging.

SPESIFISITET

CD79a-molekylet er en del av den CD79a/CD79b-disulfidbundne heterodimeren og er ikke-kovalent bundet til overflateimmunglobuliner for å danne B-cellereceptor (BCR) (12). Ekspresjonen av CD79a fremkommer tidlig i ontogenien av B-celler, og lokaliseringen av CD79a på pro-B-stadiet er derfor cytoplasmisk. Senere danner CD79a en del av BCR. Membranekspresjon av CD79a vedvarer frem til det plasmocytiske stadiet, hvor lokaliseringen igjen blir cytoplasmisk (13).

MAb HM47 reagerer med en intracytoplasmisk epitop av CD79a-molekylet (13). Det ble tildelt til CD79a under 5. HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. HLDA-seminar om humane leukocyt-differensieringsantigener), som ble avholdt i Boston i USA i 1993 (WS-kode cB017, avsnitt B) (13).

PRESISJON

Prosentandelen positive verdier ble bestemt med fullblod. Hver prøve ble kjørt 4 ganger, to ganger om dagen i 1 dag på 2 instrumenter med 2 partier CD79a-APC monoklonale antistoffreagenser. Målinger (% positiv) ble foretatt på et Navios-flytcytometer. Analysen ble utført basert på CLSI-metoden EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluering av presisjonsytelse ved kvantitative målemetoder).

Våre godkjenningskriterier er avhengige av antall positive hendelser som måles for hver populasjon:

- Hvis positiv hendelse < 1 500, VK < 15 %

- Hvis positiv hendelse > 1 500, VK < 10 %

PerFix-nc-lyseringssystem:

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 1026							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep-lyseringsystem:

Lymfocytter							
Antall positive hendelser (gjennomsnitt) = 880							
	Mellom operatører	Mellom cytometere	Innenfor samme lot	Mellom loter	Mellom kjøringer	Innenfor samme kjøring	Total
VK (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTATER	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NØYAKTIGHET

Nøyaktigheten til CD79a-APC ble vurdert ved å sammenligne resultatene med et referansereagens som predikatet på et sett med fullblodsprøver kjørt på et Navios-flytcytometer. Skjevheten mellom test- og referansereagens ble bestemt basert på forskjellen mellom testresultater. Hvis skjevheten er innenfor det tillatte feilområdet eller p-verdien angir ingen vesentlig forskjell (> 0,05), anses testresultatene for de to reagensene som tilsvarende.

De oppnådde resultatene er oppsummert i den følgende tabellen:

PerFix-nc-lyseringssystem:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep-lyseringsystem:

Antall donorer = 25				
Positivt mål	Gjennomsnittlig Δ	Δ % cellekriterier	p-verdi	RESULTATER
Lymfocytter	0,09	<3	0,659	PASS

GRENSE FOR BLANKPRØVE OG DETEKSJONSGRENSE

En studie ble gjennomført i henhold til CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluering av deteksjonsevne for måleprosedyrer på kliniske laboratorier). Deteksjonsgrensen (LOD) er den laveste analyttkonsentrasjonen som kan detekteres konsekvent. Resultatene som ble oppnådd, er oppsummert i tabellen nedenfor:

PerFix-nc-lyseringssystem:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/ μ L)	Deteksjonsgrense (celle/ μ L)
Lymfocytter	0	4

IntraPrep-lyseringsystem:

Positive Target	Grense for blankprøve (celle/ μ L)	Deteksjonsgrense (celle/ μ L)
Lymfocytter	1	2

BEGRENSNINGER

- Flowcytometri kan gi falske resultater hvis cytometeret ikke har blitt justert nøyaktig, hvis fluorescenslekkasjer ikke er kompensert riktig, og hvis regionene ikke er nøyde plassert.
- Nøyaktige og reproducerbare resultater vil oppnås så lenge de anvendte prosedyrene er i samsvar med det tekniske pakningsvedlegget og god laboratoriepraksis.
- Det konjugerte antistoffet til dette reagenset er kalibrert for å oppnå best mulig forhold mellom spesifikt signal og ikke-spesifikt signal. Derfor er det viktig å overholde forholdet mellom reagensvolum og prøvevolum i hver test.
- Ved hyperleukocytose fortynnes blodet i PBS for å oppnå en verdi på omtrent 5×10^9 leukocytter/L (11).
- Ved visse sykdomstilstander, for eksempel alvorlig nyresvikt eller hemoglobinopatier, kan lyseringen av røde celler være langsom, ufullstendig eller til og med umulig. I dette tilfellet anbefales det å isolere mononukleærerte celler ved hjelp av en densitetsgradient (for eksempel Ficoll) før farging (14).
- Hos pasienter som behandles med antihumane, monoklonale antistoffbehandlinger, kan deteksjon av bestemte målantigener reduseres eller være fraværende på grunn av delvis eller fullstendig blokkering av det terapeutiske antistoffet.
- CD79a-APC-resultatene skal tolkes i lys av den totale kliniske vurderingen av pasienten, inkludert: symptomer, klinisk historie, data fra flere tester og annen aktuell informasjon.

Se vedlegget for eksempler og referanser.

VAREMERKER

Beckman Coulter, den stiliserte logoen og vare- og servicemerke til Beckman Coulter som er omtalt her, er varemerker eller registrerte varemerker som tilhører Beckman Coulter, Inc. i USA og andre land.

TILLEGGSSINFORMASJON

For pasient/bruker/tredjepart i EU og land med identisk regelverk (EUs forordning nr. 2017/746 om in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av dette utstyret, eller som et resultat av bruken, skal dette rapporteres til produsenten og/eller den autoriserte representanten samt til nasjonal myndighet.

Summary of Safety and Performance (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i EUDAMED-databasen: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVISJONSHISTORIE

REVISJON AC:	Utgivelsesdato: Oktober 2019
REVISJON	Utgivelsesdato
AW	Februar 2022
Oppdateringer skal overholde de globale merkingsreglene til Beckman Coulter og være i samsvar med krav iht. IVD-R (EU)2017/746:	
Innsatte avsnitt	BSI 2797-nummer, Tiltenkt bruker, Klinisk relevans, Konseksjon, Presisjon, Nøyaktighet, Grense for blankprøve og deteksjonsgrense, Tilleggsinformasjon, Revisjonshistorie.
Innsatt informasjon	Se avsnittet Begrensninger
Oppdatering av formulering eller typografi	Se avsnittene Prosedyre, Ytelse, Begrensninger, Advarsler og forholdsregler, Oppbevaring og stabilitet.
Fjernede avsnitt	Eksempel på kliniske bruksområder, Reagenser, Reproducerbarhet innenfor samme laboratorium, Linearitet
Oppdaterte avsnitt	Tiltenkt bruk, GHS-fareklassifisering, Tegn på nedbryting, Prosedyre, Vedlegg.
REVISJON	Utgivelsesdato
AX	
Oppdaterte avsnitt	Lagt til kasakhisk
Oppdaterte avsnitt	Oppbevaring og stabilitet

Symbolforklaring

Symbolordliste er tilgjengelig på beckman.com/techdocs (dokumentnummer B60062)

	Tekniset tiedot
Spesifisyyys	CD79a
Kloonit	HM47
Hybridooma	NS1 x balb/c
Immunogeeni	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobuliini	IgG1
Laji	Hiiri
Puhdistus	Affinitetikromatografia
Fluorokromi	Allophycocyanin (APC)
Moolisuhde	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ-viritys	633/638 nm
Säteilyhuippu	660 nm
Puskuri	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA:ta ja 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugoitunut vasta-aine

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testiä; 1 ml, 10 µl / test

Diagnostiseen *In Vitro* -käyttöön

KÄYTTÖTARKOITUS

Tämän fluorokromikonjugoidun vasta-aineen avulla voidaan kvalitatiivisesti ja muilla kuin automaattisilla tavoilla tunnistaa solupopulaatioita, jotka ilmentävät ihmisen biologisissa näytteissä esiintyvä CD79a-antigeenia virtaussytometriaa käyttämällä (katso jäljempää kohta Näytteet).

PERIAATE

Testi perustuu tiettyjen monoklonaalisten vasta-aineiden kykyyn sitoutua leukosyttien ilmentämiin antigenideterminanteihin.

Leukosyttien sytoplasmin kalvo permeabilisoidaan eli tehdään läpäiseväksi, jotta solunsisäisiä antigenisiä determinanteja voidaan ilmentää fluoresoivien vasta-aineiden avulla. Tämän jälkeen leukosytit analysoidaan virtaussytometrialla.

Virtaussytometri mittaa valonhajontaa ja solujen fluoresenssia. Sen avulla on mahdollista rajata kiinnostuksen kohteena olevan populaatio pylväskäavioon määritetyssä elektronisessa ikkunassa, jossa ortogonaalinen valonhajonta (sivusironta eli SS) vastaa kapean kulman valonhajontaa (eteenpäinsironta eli FS). Muita syytometrin kahta eri parametria yhdistäviä pylväskäavioita voidaan käyttää rajaamisvaiheen tukena käyttäjän valitseman sovelluksen mukaan.

Rajattujen solujen fluoresenssi analysoidaan, jotta positiivisesti värjätyneet tapahtumat voidaan erottaa värjäytymättömistä tapahtumista. Tulokset ilmaistaan positiivisten tapahtumien prosenttimääränä suhteessa kaikkiin rajoaksella kerättyihin tapahtumiin.

AIOTTU KÄYTTÄJÄ

Tämä tuote on tarkoitettu ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

KLIININEN RELEVANSSI

CD79a-APC on CD79a-vasta-aine, jonka avulla tunnistetaan ja karakterisoidaan CD79a-antigeenia ilmentävät solut virtaussytometrialla. Tämä tuote yksinään ei voi eikä sen ole tarkoitus tuottaa mitään diagnostisia johtopäätöksiä.

Kun sitä käytetään yhdessä muiden merkkiaineiden kanssa, tuotetta voidaan käyttää yhteen tai useaan seuraavista toiminnosta:

- Differentiaaliagnostiikan tueksi hematologisesti poikkeaville potilaille, joilla epäillään olevan hematopoieettisia neoplasmeja, sekä sellaisten potilaiden valvontaan, joilla tiedetään olevan hematopoieettisia neoplasmeja.

Katso seuraavat viitteet:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

NÄYTTEET

Laskimoverinäytteet on otettava käyttäen sterilejä putkia, joissa on antikoagulanttina EDTA-suolaa.

Näytteet on säilytettävä huoneenlämmössä (18–25 °C), eikä niitä saa ravistaa. Näytteet on homogenoitava sekoittamalla hellävaraisesti ennen testinäytteen ottamista.

Näytteet on analysoitava 24 tunnin sisällä laskimopunktiosta.

PITOISUUS

Katso eräkohtainen analyysitodistus osoitteesta www.beckman.com.

VAROITUS JA VAROTOIMET

- Älä käytä reagenssia viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Ei saa jäätä.
- Anna sen lämmetä huoneenlämpöiseksi (18–25 °C) ennen käyttöä.
- Minimoi altistuminen valolle.
- Vältä reagenssien mikrobikontaminaatiota, muutoin vaarana ovat virheelliset tulokset.
- Natriumatsidia (NaN₃) sisältäviä vasta-aineliuoksia tulee käsitellä varoen. Sitä ei saa niellä, ja sen joutumista iholle, limakalvoille ja silmiin on vältettävä.

Lisäksi happamassa liuoksessa natriumatsidi voi muodostaa mahdollisesti vaarallista hydratsoehappoa. Jos reagenssi on hävitettävä, se on suosittelたava laimentaa suureen vesimärän ennen sen kaatamista viemäriin, jotta natriumatsidia ei pääse kertymään metalliputkiin ja vältetään räjähdyksvaara.

7. Kaikcia verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja niitä on käsiteltävä varovaisesti (erityisesti on muistettava suojakäsineiden, -pukujen ja -lasien käyttö).
8. Älä koskaan pipetoi suulla ja vältä näytteiden kaikkeja kosketusta ihoon, limakalvoihin ja silmiin.
9. Veriputket ja käsitteilyyn käytetyt kertakäyttöiset materiaalit on hävitettävä polttavaksi tarkoitetuissa ad hoc -astioissa.
10. Reagenssia ja jätteet on hävitettävä paikallisten vaatimusten mukaisesti.

GHS-VAARALUOKITUS

Ei luokiteltu vaaralliseksi



Käyttöturvallisuustiedote on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs

SÄILYTYS JA STABILITEETTI

Tästä reagensseja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja suojahtava valolta ennen ampullin avaamista ja sen jälkeen.

Suljetun ampullin säilyvyysaika stabiliteettitukimuksen mukaan: 730 päivää.

Avatun ampullin stabiliteetti: reagenssi on stabiili 180 päivän ajan.

MERKIT PILAANTUMISESTA

Mahdolliset muutokset reagenssin fyysisessä ulkonäössä voivat viitata huonontumiseen, eikä reagenssia saa tällöin käyttää.

Jos tarvitset lisätietoja tai jos sait vahingoittuneen tuotteen, soita Beckman Coulter -asiakaspalveluun numeroon 800 742 2345 (USA ja Kanada) tai ota yhteyttä Beckman Coulterin paikalliseen edustajaan.

SISÄLTÖ

Natriumatsidi-säilöntääaine saattaa muodostaa räjähtäviä yhdisteitä metallisissa viemäripatkissa. Katso NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16.08.1976). Huuhtele viemäripuket vedellä laimentamattoman reagenssin poiston jälkeen mahdollisen atsidiyhdisteiden kerääntymisen estämiseksi. Hävitä natriumatsidi asianmukaisten paikallismäärysten mukaisesti.

TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI TOIMITETA SARJAN MUKANA:

- Näytteenottoon tarvittavat näytteenottoputket ja materiaalit.
- Automaattiset pipetit, joissa kertakäytökäärjet 10, 100 ja 500 µl.
- Muoviset hemolyysiputket.
- Optimaalisten tulosten saamiseksi suositellaan jompakumpaa seuraavista reagensseista (noudata niihin liittyviä erityismenetelyitä):
IntraPrep-kiinnitys-/permeabilisointireagenssi (viite A07802 tai A07803)
PerFix-nc-sarja (ei sentrifugimääritysarja), solunsisäiseen ja -ulkoiseen valmistamiseen (viite B31167 tai B31168)
- Leukosyytien kiinnitysreagenssi. Esimerkiksi: IOTest 3 -fiksatiiviluosi (viite A07800).
- Isotyppinen kontrolli APC: IOTest-reagenssi (viite IM2475).
- Puskuri (PBS: 0,01 M natriumfosfaattia, 0,145 M natriumkloridia, pH 7,2).
- Sentrifugi.
- Automaattinen sekoitin (Vortex-/pyörretyyppinen).
- Virtaussyntometri.

PERFIX-NC-REAGENSSIN MENETTELY

Katso alla oleva suositeltu menetely käytettäväksi solunsisäiseen ja -ulkoiseen värijäysvalmisteluun tarkoitetun PerFix-nc-sarjan (ei sentrifugimääritysarja) (ref. B31167 tai B31168) kanssa.

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyppistä kontrollia (ref. IM2475).

Sarjan reagenssin valmistaminen

PerFix-nc-puskurin 1 ja 2 reagenssit

Rekonstituointi ei ole tarpeen. Kumpaakin reagenssia voidaan käyttää suoraan ampullista.

PerFix-nc -puskurin 3 reagenssin valmistaminen

Valmista tätä käytökertaa varten lopullinen 1-kertainen reagenssi.

Laimenna 10-kertaisesti konsentroitu PerFix-nc-puskuri 3 (lopullinen 10-kertainen liuos) deionisoituu veteen: suhteessa 1 tilavuus puskuria 3 ja 9 tilavuutta vettä. Sekoita hyvin ennen käyttöä. Suosittelemme valmistamaan lopullista 1-kertaista reagenssia vain määrä, joka tarvitaan kyseisen päivän kokeisiin.

1. Pipetoi 50 µl verinäytettä kunkin asianmukaisesti merkityn putken pohjaan. Vältä veren laittamista putken sivuun, sillä muuten sitä ei käsitellä asianmukaisesti.
2. Pipetoi 5 or 25 µl kiinnitysreagenssia kuhunkin putkeen riippuen siitä, tarvitaanko heikko vai vahva kiinnitys (katso lisätietoja heikon/vahvan kiinnityksen protokolista PerFix-nc-käyttöohjeesta).
3. Sekoita välittömästi pyörresekoittimella ja inkuboi 15 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C).
4. Sekoita kiinnitetty veri uudelleen pyörresekoittimella ja lisää 300 µl permeabilisoivaa reagenssia jokaiseen putkeen. Sekoita välittömästi tämän jälkeen pyörresekoittimella.

- Lisätään välittömästi jokaiseen putkeen 10 µl fluorokromikongeoitua vasta-aineita solunsiisäisiä epitooppeja ja pintamolekyylejä vastaan (vaihtoehtoisenkäsi vasta-aineet voidaan sekoittaa valmiiksi permeabilisoivan reagenssiin ja lisätä kaikki yhdessä kiinnitysvaiheen lopussa).
- Sekoita välittömästi pyörresekoiittimella ja inkuboi 15–30 minuuttia huoneenlämmössä.
- Lisää 3 ml lopullista 1-kertaista reagenssia (valmistettu 10-kertaisesta tiivistetyistä lopullisesta liuoksesta) kuhunkin putkeen ja sekoita välittömästi pyörresekoiittimella. Näyte on nyt valmis analysoitavaksi virtaussyytometrillä.

HUOMAUTUS: Valmisteet voidaan säilyttää 24 tuntia ennen sytometristä analyysiä. Ne on suositeltavaa säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suoajattuna.

INTRAPREP-REAGENSSIN MENETTELY

Alla on menettely, jota suositellaan käytettäväksi IntraPrep-kiinnitysreagenssin-/permeabilisointireagenssin (viite A07802 tai A07803) kanssa.

Jokaiselle analysoidulle näytteelle voidaan lisätä testiputken lisäksi yksi kontrolliputki, jossa solut sekoitetaan käyttämällä isotyppistä kontrollia (ref. IM2475).

Verinäytteen optimaalinen värijäys saadaan käyttämällä useita leukosyyttejä välillä 3 ja 10×10^3 solua/µl. Jos leukosyytipitoisuus on suurempi kuin 10×10^3 solua/µl, laimenna (11).

- Lisää 50 µl EDTA:han kerättyä verinäytettä kuhunkin putkeen.
- Lisää jokaiseen putkeen 100 µl IntraPrep-reagenssia 1 (kiinnitys).
- Sekoita putkia voimakkaasti pyörresekoiittimella 3–5 sekunnin ajan.
- Inkuboi 15 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C) valolta suoajattuna.
- Lisää 4 ml PBS:ää jokaiseen putkeen.
- Sentrifugoi 300 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä. Poista supernatantti aspiroimalla.
- Lisää jokaiseen putkeen 100 µl IntraPrep-reagenssia 2 (permeabilisoivaa). Anna sekoittua diffusoitumalla. ÄLÄ SEKOITE PYÖRRESEKOITTIMELLA.
- Inkuboi 5 minuutin ajan huoneenlämmössä, älä ravista.
- Ravista putkia varovaisesti käsin 2–3 sekunnin ajan.
- Lisää 10 µl spesifisiä IOTest-konjuguoitua vasta-aineita jokaiseen testiputkeen ja tarvittaessa 10 µl isotyppistä kontrollia jokaiseen kontrolliputkeen.
- Inkuboi 15–20 minuuttia huoneenlämmössä (18–25 °C), valolta suoajattuna.
- Lisää 4 ml PBS:ää ja sentrifugoi 300 x g 5 minuutin ajan huoneenlämmössä.
- Poista supernatantti aspiroimalla ja suspendoi solupelletti uudelleen käyttämällä 0,5–1 ml IOTest 3 -fiksatiiviliuosta (viite A07800) sen työskentelypitoisuudella (1-kertainen).
- Valmisteet ovat valmiita sytometriseen analyysiin.

HUOMAUTUS: Jos valmisteet aiotaan säilyttää yli 2 tuntia ennen sytometristä analyysiä, ne on suositeltavaa säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa ja valolta suoajattuna. Nämä säilytetty valmisteet säilyvät kuitenkin enintään 24 tuntia.

ODOTETUT ARVOT

Laboratorioissamme 25 ilmeisesti terveen luovuttajan kokoverinäytteet käsiteltiin edellä kuvatulla reagenssilla. Seuraavassa taulukossa esitetään tällä reagenssilla saadut tulokset, kun kiinnostuksen kohteena olleet positiiviset tapahtumat laskettiin:

PerFix-nc-lyysausjärjestelmä:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep-lyysausjärjestelmä:

Positiivinen kohde	Lukumäärä	Keskiarvo (%)	SD	CV (%)
Lymfosyytit	25	10,02	4,03	40,19

Nämä arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi. Jokaisen laboratorion tulee luoda omat odotetut arvonsa paikallisen normaalien luovuttajien populaation mukaan.

SUORITUSKYKY

Suorituskykytiedot saadaan edellä kuvatulla menetelmällä käyttämällä alle 24 tunnin ikäisistä näytteistä, jotka on aiemmin kerätty steriileihin putkiin, joissa antikoagulanttina on EDTA-suola. Analyysi suoritetaan 2 tunnin kuluessa immunovärjyksestä.

SPESIFISYYS

CD79a-molekyyli on osa CD79a-/CD79b-disulfidisidoksista heterodimeeriä, joka on ei-kovalenttisesti sitoutunut pintaimmunoglobuliineihin B-solureseptorien (BCR) muodostamista varten (12). CD79a-molekyyliä ilmenetetään varhain B-solujen ontogeniassa, ja sen paikantaminen pro-B-vaiheessa on siksi sytoplasmista. Myöhempin CD79a muodostaa osan B-solureseptoreita (BCR). Sen ilmentäminen kalvolta jatkuu plasmosyytisen vaiheeseen asti, ja tässä vaiheessa sen paikantaminen muuttuu uudestaan sytoplasmiseksi (13).

Monoklonaalinen vasta-aine HM47 reagoi CD79a-molekyylin intrasytoplasmisen epitopeen kanssa (13). Se määritettiin kuuluvaksi ryhmään CD79a viidennessä ihmisleukosyytien differentiaatioantigeenejä käsitelleessä seminaarissa (Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, HLDA), joka pidettiin Bostonissa, Yhdysvalloissa, vuonna 1993 (WS-koodi: cB017, kohta B) (13).

TARKKUUS

Prosentuaaliset positiiviset arvot määritettiin käyttämällä kokovarta. Jokainen näyte käsiteltiin 4 kertaa, kahdesti päivässä päivänä 1 2 laitteessa käyttämällä 2 erää CD79a-APC monoklonalista vasta-ainereagensseja. Mittaukset (% positiivisia) tehtiin Navios-virtaussyytometrillä. Analyysi tehtiin perustuen CLSI:n menetelmään EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivisten mittausmenetelmien tarkkuussuorituskyvyn arviointi).

Hyväksytäkriteerimme on riippuvainen kussakin populaatiossa mitattujen positiivisten tapahtumien määrästä:

- Jos tapahtuma on positiivinen $< 1\ 500$, CV $< 15\ %$

- Jos tapahtuma on positiivinen > 1 500, CV < 10 %

PerFix-nc-lyysausjärjestelmä:

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 1026							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep-lyysausjärjestelmä:

Lymfosyytit							
Positiivisten näytteiden lukumäärä (keskiarvo) = 880							
	Käyttäjien välinen	Sytometrin sisäinen	Erän sisäinen	Erien välinen	Ajojen välinen	Ajon sisäinen	Yhteensä
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
TULOKSET	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ULKOINEN TARKKUUS

Kohteen CD79a-APC tarkkuus arvioitiin vertaamalla tuloksia viittereagenssiin, joka toimi Navios-virtaussytometrilla käsitellyn kokoverinäyttesarjan predikaattina. Testireagenssin ja vertailureagenssin välinen poikkeama määritettiin testitulosten välisen eron perusteella. Jos poikkeama on sallittu virhealueen rajoissa tai p-arvo ei osoita merkityksellistä eroa ($> 0,05$), näiden kahden reagenssin testituloksia pidetään vastaavina.

Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

PerFix-nc-lyysausjärjestelmä:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep-lyysausjärjestelmä:

Luovuttajien määrä = 25				
Positiivinen kohde	Keskiarvo Δ	Δ % -solukriteeri	p-arvo	TULOKSET
Lymfosyytit	0,09	<3	0,659	PASS

NOLLAMITTAUKSEN YLÄRAJA JA MITTAUKSEN ALARAJA

Tutkimus tehtiin CLSI EP17-A2:n mukaisesti, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Detektiokyvyn arviointi kliinisissä laboratoriomittauksenmenettelyissä). Mittauksen alaraja (LoD) on analyytiin alhaisin pitoisuus, joka voidaan havaita johdonmukaisesti. Saadut tulokset esitetään seuraavassa taulukossa:

PerFix-nc-lyysausjärjestelmä:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/ μ l)	Mittauksen alaraja (solu/ μ l)
Lymfosyytit	0	4

IntraPrep-lyysausjärjestelmä:

Positive Target	Nollamittauksen yläraja (solu/ μ l)	Mittauksen alaraja (solu/ μ l)
Lymfosyytit	1	2

RAJOITUKSET

- Virtaussytometrialla saadut tulokset voivat olla virheellisiä, jos sytometri on kohdistettu epätarkasti, jos fluoresenssivuotoja ei ole kompensoitu oikein ja jos alueita ei ole sijoitettu tarkasti.
- Tulokset ovat tarkkoja ja toistettavissa, kunhan käytetty menetelmät ovat teknisen selosteenvälinen mukaisia ja noudattavat hyviä laboratoriokäytäntöjä.
- Tämän reagenssin konjugoitu vasta-aine kalibroidaan siten, että saadaan paras spesifisen signaalin ja epäspesifisen signaalin suhde. Siksi on tärkeää noudattaa reagenssin tilavuuden / näytteen suhdetta jokaisessa testissä.
- Jos kyseessä on hyperleukosytoosi, laimenna veri PBS:ään sitten, että saat arvoksi noin 5×10^9 leukosyytti/l (11).
- Tiettyissä sairauksissa, kuten vaikeassa munuaisten vajaatoiminnassa tai hemoglobinopatioissa, punasolujen hajoaminen voi olla hidasta, epätäydellistä tai jopa mahdotonta. Tässä tapauksessa yksitumaiset solut on suositeltavaa eristää käytämällä tiheysgradienttia (esimerkiksi Ficoll) ennen värväystä (14).
- Potilailla, joita on hoidettu muun kuin ihmisen monoklonalisilla vasta-aineilla, kohdeantigeenin havaitseminen voi heikentää tai estyä osittain tai kokonaan hoidossa käytetyn vasta-aineen vaikutuksesta.
- CD79a-APC-tulosten tulkinnassa on otettava huomioon potilaan kaikki kliiniset tiedot, mukaan lukien oireet, kliininen historia, lisätestien tiedot ja muut asianmukaiset tiedot.

Katsa esimerkkejä ja viitteitä liitteestä.

TAVARAMERKIT

Beckman Coulter, tyylitelty logo ja tässä mainitut Beckman Coulter -tuotteiden ja palveluiden merkit ovat Beckman Coulter, Inc:in tavaramerkkejä tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja muissa maissa.

LISÄTIETOJA

Potilaalle / käyttäjälle / kolmannelle osapuolelle Euroopan unionin alueella ja maissa, joissa on samanlainen säädelyjärjestelmä (in vitro -diagnostiikkaan tarkoitettuja lääkinnällisiä laitteita koskeva asetus 2017/746/EU): jos tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena on tapahtunut vakava tapahtuma, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai valmistajan valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Turvallisuutta ja suorituskykyä koskeva yhteenveto on saatavilla EUDAMED-tietokannasta osoitteesta ec.europa.eu/tools/eudamed.

TARKISTUSHISTORIA

VERSIO AC:	Julkaisupäivä: Lokakuu 2019
------------	-----------------------------

VERSIO	Julkaisupäivä
AW	Helmikuu 2022
Päivitetty noudattamaan Beckman Coulterin maailmanlaajuista merkintämenettelyä ja IVD-R (EU)2017/746 -standardin vaatimuksia:	
Lisätty osat	BSI 2797 -numero, Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä, Kliininen relevanssi, Pitoisuus, Tarkkuus, Ulkoinen tarkkuus, Nollamittauksen yläraja ja mittauksen alaraja, Lisätietoja, Tarkistushistoria.
Lisätty tiedot	Katso kohta Rajoitukset
Sanamuodot tai typografiset päivitykset	Katso kohdat Menettely, Suorituskyky, Rajoitukset, Varoitus ja varotoimet, Säilytys ja stabiliteetti.
Poistetut osat	Esimerkki kliinisistä käyttötarkoituksista, Reagenssit, Laboratorionsäinen toistettavuus, Linearisuus
Päivitetty osat	Käyttötarkoitus, GHS-vaaraluokitus, Merkit pilaantumisesta, Menettely, Liite.

VERSIO	Julkaisupäivä
AX	
Päivitetty osat	Lisää kazakki
Päivitetty osat	Säilytys ja stabiliteetti

Symboliluettelo

Symbolisanasto on saatavana osoitteessa beckman.com/techdocs (asiakirjan numero B60062)

	Προδιαγραφές
Ειδικότητα	CD79a
Κλώνος	HM47
Υβρίδωμα	NS1 x balb/c
Ανοσογόνο	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Ανοσοσφαιρίνη	IgG1
Είδος	Μυς
Κάθαρση	Χρωματογραφία συγγένειας
Φθορόχρωμα	Allophycocyanin (APC)
Γραμμομοριακή αναλογία	APC/Ig: 0,5 - 1,5
Διέγερση λ	633/638 nm
Μέγιστη τιμή εκπομπών	660 nm
Ρυθμιστικό Διάλυμα	PBS pH 7,2 συν 2 mg/mL BSA και 0,1% NaN ₃

ΙΟTest

Συζευγμένο αντίσωμα

CD79a-APC

REF B36287 100 δοκιμασίες, 1 mL, 10 μL / test

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Αυτό το συζευγμένο με φθοροχρώματα αντίσωμα επιτρέπει την ποιοτική και μη αυτοματοποιημένη ταυτοποίηση των κυτταρικών πληθυσμών που εκφράζουν το αντιγόνο CD79a που απαντάται σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα, με χρήση κυτταρομετρίας ροής (δείτε την παρακάτω ενότητα «Δείγματα»).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Αυτή η εξέταση βασίζεται στην ικανότητα συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων να δεσμεύονται στους αντιγονικούς καθοριστές που εκφράζονται από τα λευκοκύτταρα.

Επάγεται η διαπερατότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των λευκών αιμοσφαιρίων για την ανάδειξη των ενδοκυττάριων αντιγονικών καθοριστών μέσω μονοκλωνικών φθοριζόντων αντισωμάτων. Στη συνέχεια, τα λευκά αιμοσφαιρία αναλύονται με κυτταρομετρία ροής.

Το κυτταρόμετρο ροής μετρά τη διάχυση φωτός και τον φθορισμό των κυττάρων. Καθιστά δυνατή την οριοθέτηση του πληθυσμού ενδιαφέροντος εντός του ηλεκτρονικού παραβόλου που ορίζεται σε ένα ιστόγραμμα, το οποίο συσχετίζει την ορθογώνια διάχυση φωτός (πλάγια σκέδαση ή SS) και τη διάχυση φωτός κλειστής γωνίας (πρόσθια σκέδαση ή FS). Άλλα ιστόγραμμα που συνδύαζουν δύο από τις διαθέσιμες διαφορετικές παραμέτρους του κυττάρομετρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν υποστηρικτικά κατά το στάδιο της οριοθέτησης, ανάλογα με την εφαρμογή που επιλέγει ο χρήστης.

Ο φθορισμός των οριοθετημένων κυττάρων αναλύεται προκειμένου να είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ των θετικά σημασμένων συμβάντων και των μη σημασμένων συμβάντων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό των θετικών συμβάντων σε σχέση με το σύνολο των συμβάντων που ελήφθησαν από την οριοθέτηση.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΟΣ ΧΡΗΣΤΗΣ

Αυτό το προϊόν προορίζεται για επαγγελματική εργαστηριακή χρήση.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΥΝΑΦΕΙΑ

Το CD79a-APC είναι ένα αντίσωμα CD79a που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό κυττάρων που εκφράζουν το αντιγόνο CD79a με κυτταρομετρία ροής. Αυτό το προϊόν από μόνο του δεν μπορεί να παράγει οποιοδήποτε διαγνωστικό συμπέρασμα και δεν προορίζεται για αυτήν τη χρήση.

Όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, αυτό το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία ή περισσότερες από τις ακόλουθες λειτουργίες:

- Ως βοήθημα στη διαφορική διάγνωση μη φυσιολογικών αιματολογικά ασθενών με υποψία αιμοποιητικής νεοπλασίας και για την παρακολούθηση ασθενών με γνωστή αιμοποιητική νεοπλασία.

Δείτε τις ακόλουθες παραπομπές:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τα δείγματα φλεβικού αίματος πρέπει να διατηρούνται σε αποστειρωμένα σωληνάρια που περιέχουν άλας EDTA ως αντιπηκτικό.

Τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) και δεν θα πρέπει να ανακινούνται. Πριν από τη λήψη του δείγματος προς εξέταση, τα δείγματα πρέπει να ομογενοποιούνται με ήπια ανάδευση.

Τα δείγματα πρέπει να αναλύονται εντός 24 ωρών από τη φλεβοκέντηση.

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Δείτε το ειδικό για την παρτίδα πιστοποιητικό ανάλυσης στη διεύθυνση www.beckman.com.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης.
2. Μην καταψύχετε.
3. Αφήστε το να περιέλθει σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) πριν από τη χρήση.
4. Ελαχιστοποιήστε την έκθεση στο φως.
5. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά ενδέχεται να προκύψουν ψευδή αποτελέσματα.

- Να χειρίζεστε τα διαλύματα αντισωμάτων που περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) με προσοχή. Μην εισπνέετε και αποφεύγετε κάθε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
Επιπλέον, σε όξινο μέσο, το αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει ένα δυνητικά επικίνδυνο υδραζωτικό οξύ. Αν χρειαστεί να απορριφθεί, συνιστάται η αραίωση του αντιδραστηρίου με μεγάλη ποσότητα νερού πριν από την έκχυση στο αποχετευτικό σύστημα, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση αζίδιου του νατρίου στις μεταλλικές σωληνώσεις και να αποτραπεί ο κίνδυνος έκρηξης.
- Πρέπει να θεωρείτε όλα τα δείγματα αίματος δυνητικά μολυσματικά και να τα χειρίζεστε με προσοχή (ειδικότερα: να φοράτε προστατευτικά γάντια, ποδιές και γυαλιά).
- Μην χρησιμοποιείτε ποτέ πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε κάθε επαφή των δειγμάτων με το δέρμα, τους βλεννογόνους και τα μάτια.
- Τα σωληνάρια αίματος και το υλικό μίας χρήσης που χρησιμοποιούνται για τον χειρισμό πρέπει να απορρίπτονται σε ειδικά δοχεία που προορίζονται για αποτέφρωση.
- Τα αντιδραστήρια και τα απόβλητα πρέπει να απομακρύνονται σύμφωνα με τις τοπικές απαιτήσεις.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ GHS

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο



Το Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Πρέπει να φυλάσσετε αυτό το αντιδραστήριο σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και να το προστατεύετε από το φως πριν και μετά το άνοιγμα του φιαλιδίου.

Διάρκεια ζωής κλειστού φιαλιδίου ανά μελέτη σταθερότητας: 730 ημέρες.

Σταθερότητα ανοιχτού φιαλιδίου: το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό για 180 ημέρες.

ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ

Οποιαδήποτε μεταβολή στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων είναι πιθανό να υποδεικνύει αλλοίωση και το αντιδραστήριο δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται.

Για επιπλέον πληροφορίες ή σε περίπτωση παραλαβής ελαττωματικού προϊόντος, επικοινωνήστε με την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών της Beckman Coulter στο 800-742-2345 (για ΗΠΑ και Καναδά) ή με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Beckman Coulter.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Το συντρητικό αζίδιο του νατρίου μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικές ενώσεις στους μεταλλικούς αποχετευτικούς αγωγούς. Δείτε το ενημερωτικό δελτίο του NIOSH: Explosive Azide Hazard (Κίνδυνος έκρηξης αζίδιου) (16/8/76)

Για να αποφύγετε την ενδεχόμενη συσσώρευση ενώσεων αζίδιου, να εκπλένετε τους σωλήνες αποβλήτων με νερό μετά την απόρριψη μη αραιωμένου αντιδραστηρίου. Η απόρριψη του αζίδιου του νατρίου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους αντίστοιχους τοπικούς κανονισμούς.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ KIT:

- Σωλήνες δειγματοληψίας και υλικό που είναι απαραίτητο για τη δειγματοληψία.
- Αυτόματες πιπέτες με ρύγχη μίας χρήσης για 10, 100 και 500 μL .
- Πλαστικά σωληνάρια αιμόλυσης.
- Για την επίτευξη βέλτιστων αποτελεσμάτων, συνιστώνται οποιαδήποτε από τα ακόλουθα αντιδραστήρια (τηρείτε την σχετική ειδική διαδικασία)
 - Αντιδραστήριο στερέωσης/διαπερατότητας IntraPrep Fixation/Permeabilization (Κωδικός είδους A07802 ή A07803)
 - Kit PerFix-nc (no centrifuge assay kit) για προετοιμασία ενδοκυττάριας και εξωκυττάριας χρώσης (Κωδικός είδους B31167 ή B31168)
- Αντιδραστήριο μονιμοποίησης λευκοκυττάρων. Για παράδειγμα: Διάλυμα μονιμοποίησης IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ισοτυπικός μάρτυρας APC: Αντιδραστήριο IOTest (Ref. IM2475).
- Ρυθμιστικό διάλυμα (PBS: 0,01 M φωσφορικό νάτριο, 0,145 M χλωριούχο νάτριο, pH 7,2).
- Φυγόκεντρος.
- Αυτόματος αναδευτήρας (τύπου περιδίνησης).
- Κυτταρόμετρο ροής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ PERFIX-NC

Παρακάτω παρατίθεται η συνιστώμενη διαδικασία για χρήση με το Kit PerFix-nc (χωρίς κιτ ανάλυσης με φυγόκεντρο) για την προετοιμασία ενδοκυτταρικής και εξωκυτταρικής χρώσης (Ref B31167 ή B31168).

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. IM2475).

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ ΤΟΥ KIT

Αντιδραστήρια ρυθμιστικού διαλύματος 1 και 2 PerFix-nc

Δεν απαιτείται ανασύσταση. Και τα δυο αντιδραστήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας από το φιαλίδιο.

Προετοιμασία αντιδραστηρίου ρυθμιστικού διαλύματος 3 PerFix-nc

Προετοιμάστε αυτοσχεδίως το τελικό αντιδραστήριο 1X.

Αραιώστε το συμπυκνωμένο 10X ρυθμιστικό διάλυμα 3 PerFix-nc (τελικό διάλυμα 10X) σε απιονισμένο νερό: 1 μέρος ρυθμιστικού διαλύματος 3 με 9 μέρη νερό. Αναμίξτε καλά πριν από τη χρήση. Συνιστούμε να προετοιμάσετε μόνο τον όγκο του τελικού αντιδραστηρίου 1X που απαιτείται για τα πειράματα της ημέρας.

- Μεταφέρετε με πιπέτα 50 μL δειγματος αίματος στον πυθμένα κάθε σωληναρίου που έχει επισημανθεί κατάλληλα. Αποφεύγετε να τοποθετείτε αίμα στα πλαϊνά τοιχώματα του σωληναρίου καθώς δεν θα γίνει σωστά ο χειρισμός του.

- Διανείμετε με πιπέτα 5 ή 25 μL μονιμοποιητικού αντιδραστηρίου σε κάθε σωληνάριο ανάλογα με το αν απαιτείται χαμηλή η υψηλή μονιμοποίηση (ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του PerFix-nC για λεπτομέρειες σχετικά με τα πρωτόκολλα χαμηλής/υψηλής μονιμοποίησης).
- Αναδέψτε αμέσως και επωάστε για 15 min υπό θερμοκρασία δωματίου (18 –25 °C).
- Ανακινήστε ξανά σε συσκευή Vortex το στερεωμένο αίμα και προσθέστε 300 μL του αντιδραστηρίου επαγωγής διαπερατότητας σε κάθε σωληνάριο. Ανακινήστε αμέσως σε συσκευή Vortex.
- Προσθέστε αμέσως σε κάθε σωληνάριο 10 μL συζευγμένων με φθοροχρώμια αντισωμάτων έναντι των ενδοκυττάριων επιτόπων και των επιφανειακών μορίων (εναλλακτικά, τα αντισώματα μπορούν να προ-αναμιχθούν στο αντιδραστήριο επαγωγής διαπερατότητας και να προστεθούν μαζί στο τέλος του βήματος στερέωσης).
- Ανακινήστε αμέσως σε συσκευή Vortex και επωάστε για 15 - 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προσθέστε 3 mL του τελικού αντιδραστηρίου 1X (το οποίο προετοιμάστηκε από το συμπυκνωμένο 10X τελικό διάλυμα) σε κάθε σωληνάριο και ανακινήστε αμέσως σε συσκευή Vortex. Το δείγμα είναι τώρα έτοιμο για ανάλυση σε κυτταρομετρητή ροής.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα παρασκευάσματα μπορούν να φυλαχθούν για 24 ώρες πριν από την κυτταρομετρική ανάλυση. Συνιστάται η φύλαξη τους σε θερμοκρασία 2-8 °C και προστατευμένα από το φως.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ INTRAPREP

Ακολουθεί η συνιστώμενη διαδικασία για χρήση με το αντιδραστήριο στερέωσης/διαπερατότητας IntraPrep Fixation/Permeabilization (Κωδικός είδους A07802 ή A07803).

Για κάθε δείγμα που αναλύεται, εκτός του σωληναρίου εξέτασης, μπορεί να προστεθεί ένα σωληνάριο μάρτυρα μέσα στο οποίο αναμειγνύονται τα κύτταρα παρουσία του ισοτυπικού μάρτυρα (Ref. IM2475).

Για δείγμα αίματος, η βέλτιστη χρώση επιτυγχάνεται όταν ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων που χρησιμοποιείται είναι μεταξύ 3 και 10×10^3 κυττάρων / μL. Εάν η συγκέντρωση των λευκών αιμοσφαιρίων είναι μεγαλύτερη από 10×10^3 κύτταρα / μL, πραγματοποιήστε αραίωση (11).

- Προσθέστε 50 μL δείγματος αίματος που έχει συλλεχθεί σε EDTA σε κάθε σωληνάριο.
- Σε κάθε σωληνάριο προσθέστε 100 μL αντιδραστηρίου IntraPrep Reagent 1 (Στερέωση).
- Περιδινήστε έντονα τα σωληνάρια επί 3 έως 5 δευτερόλεπτα.
- Επωάστε για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) λεπτά προστατευμένο από το φως.
- Προσθέστε 4 mL PBS σε κάθε σωληνάριο.
- Φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 300 x g σε θερμοκρασία δωματίου. Αφαιρέστε το υπερκείμενο με αναρρόφηση.
- Προσθέστε 100 μL αντιδραστηρίου IntraPrep 2 (διαπερατότητας) σε κάθε σωληνάριο. Αφήστε να αναμιχθούν με διάχυση. ΜΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΕΙΤΕ ΠΕΡΙΔΙΝΗΣΗ.
- Επωάστε για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου χωρίς ανακίνηση.
- Ανακινήστε τα σωληνάρια προσεκτικά και χειροκίνητα για 2 έως 3 δευτερόλεπτα.
- Προσθέστε 10 μL ειδικού συζευγμένου αντισώματος IOtest σε κάθε δοκιμαστικό σωληνάριο και, εάν απαιτείται, 10 μL του ισοτυπικού μάρτυρα σε κάθε σωληνάριο μάρτυρα.
- Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 15 έως 20 λεπτά, προστατεύοντας από το φως.
- Προσθέστε 4 mL PBS και φυγοκεντρήστε για 5 λεπτά στα 300 x g σε θερμοκρασία δωματίου.
- Αφαιρέστε την υπερκείμενη στοιβάδα με αναρρόφηση και επαναιωρήστε το κυτταρικό ίζημα σε 0,5 έως 1 mL διαλύματος σταθεροποίησης IOtest 3 (Αναφ. A07800) στη λειτουργική του συγκέντρωση (1X).
- Τα παρασκευάσματα είναι έτοιμα για κυτταρομετρική ανάλυση.

Σημειώση: Εάν τα παρασκευάσματα πρόκειται να διατηρηθούν για περισσότερες των 2 ωρών πριν από την ανάλυσή τους στον κυτταρομετρητή, συνιστάται η τοποθέτησή τους σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C και μακριά από εστίες φωτός. Οι αποθηκευμένοι αυτοί σωλήνες δεν μπορούν να διατηρηθούν για διάστημα μεγαλύτερο των 24 ωρών.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στα εργαστήριά μας, τα δείγματα ολικού αίματος από 25 φαινομενικά υγιείς δότες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χρήση του αντιδραστηρίου που περιγράφεται παραπάνω. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν για την καταμέτρηση των θετικών συμβάντων ενδιαφέροντος με αυτό το αντιδραστήριο παρατίθενται στον παρακάτω τίτλα:

Σύστημα λύσης PerFix-nC:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	10,98	4,13	37,60

Σύστημα λύσης IntraPrep:

Θετικός στόχος	Αριθμός	Μέση τιμή (%)	SD	CV (%)
Λεμφοκύτταρα	25	10,02	4,03	40,19

Οι τιμές αυτές παρέχονται αποκλειστικά για ενδεικτικούς σκοπούς. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίσει τις δικές του αναμενόμενες τιμές βάσει του τοπικού πληθυσμού των φυσιολογικών δοτών.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Τα δεδομένα απόδοσης λαμβάνονται με χρήση της διαδικασίας που περιγράφηκε παραπάνω σε δείγματα αίματος ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών που συλλέχθηκαν προηγουμένως σε αποστειρωμένα σωληνάρια με άλας EDTA ως αντιπηκτικό. Η ανάλυση εκτελείται εντός 2 ωρών από την ανοσοχρώση.

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Το μόριο CD79a αποτελεί μέρος του ετεροδιμερούς CD79a / CD79b, που συνδέεται με δισουλφιδικό δεσμό, και συνενώνεται με ετεροπολικό δεσμό με τις επιφανειακές ανοσοσφαιρίνες προκειμένου να σχηματίσει τον υποδοχέα των κυττάρων B (BCR) (12). Η έκφραση του CD79a εμφανίζεται με πρώιμο τρόπο

στην οντογένεση των κυττάρων B και η θέση του στο στάδιο προ-B είναι επομένως κυτταροπλασματική. Αργότερα, το μόριο CD79a εισάγεται στη σύνθεση του υποδοχέα BCR. Η μεμβρανική του έκφραση διατηρείται έως το κυτταροπλασματικό στάδιο, μετά από το οποίο η θέση του είναι ξανά κυτταροπλασματική (13).

Το MA HM47 αντιδρά με ένα ενδο-κυτταροπλασματικό επίτοπο του μορίου CD79a (13). Το αντίσωμα αυτό είχε συσχετιστεί με το CD79a κατά τη διάρκεια του 5ou HLDA Workshop για τα Αντίγονα Διαφοροποίησης των Ανθρώπινων Λευκοκυττάρων, Βοστόνη, ΗΠΑ, το 1993 (WS Code: cB017, Section B) (13).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Οι ποσοστιαίς θετικές τιμές προσδιορίστηκαν με χρήση ολικού αίματος. Κάθε δείγμα αναλύθηκε 4 φορές, δύο φορές την ημέρα για 1 ημέρα σε 2 όργανα με χρήση 2 παρτίδων αντιδραστήρων μονοκλωνικού αντισώματος CD79a-APC. Οι μετρήσεις (% θετικών) πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με βάση τη μέθοδο CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Αξιολόγηση της απόδοσης ακρίβειας για μεθόδους ποσοτικής μέτρησης).

Τα κριτήρια έγκρισης εξαρτώνται από τον αριθμό των θετικών συμβάντων που μετρώνται για κάθε πληθυσμό:

- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος <1.500, <15% CV
- Σε περίπτωση θετικού συμβάντος >1.500, <10% CV

Σύστημα λύσης PerFix-nc:

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 1026							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Σύστημα λύσης IntraPrep:

Λεμφοκύτταρα							
Αριθμός θετικών συμβάντων (μέσος όρος) = 880							
	Μεταξύ χειριστών	Μεταξύ κυτταρόμετρων	Εντός παρτίδας	Μεταξύ παρτίδων	Μεταξύ αναλύσεων	Εντός ανάλυσης	Σύνολο
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ακρίβεια του CD79a-APC αξιολογήθηκε με σύγκριση των αποτελεσμάτων με ένα αντιδραστήριο αναφοράς ως μέσο πρόγνωσης, σε ένα σύνολο δειγμάτων ολικού αίματος που αναλύθηκε σε κυτταρόμετρο ροής Navios. Το συστηματικό σφάλμα μεταξύ εξέτασης και αντιδραστήριου αναφοράς προσδιορίστηκε με βάση τη διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δοκιμής. Εάν το συστηματικό σφάλμα βρίσκεται εντός του επιτρεπόμενου εύρους σφαλμάτων ή τη τιμή ρ δεν υποδεικνύει καμία σημαντική διαφορά (>0,05), τα αποτελέσματα δοκιμών για τα δύο αντιδραστήρια θεωρούνται ισοδύναμα.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον πίνακα που ακολουθεί:

Σύστημα λύσης PerFix-nc:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή ρ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	0,32	<3	0,005	PASS

Σύστημα λύσης IntraPrep:

Αριθμός δοτών = 25				
Θετικός στόχος	Μέση τιμή Δ	Κριτήρια κυττάρων Δ %	Τιμή ρ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
Λεμφοκύτταρα	0,09	<3	0,659	PASS

ΟΡΙΟ ΤΥΦΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΙΟ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

Διεξήχθη μια μελέτη με βάση τις οδηγίες του CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Αξιολόγηση της ικανότητας ανίχνευσης για διαδικασίες μέτρησης κλινικών εργαστηρίων). Το όριο ανίχνευσης (OA) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Σύστημα λύσης PerFix-nc:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα	0	4

Σύστημα λύσης IntraPrep:

Positive Target	Όριο τυφλού (κύτταρο/μL)	Όριο ανίχνευσης (κύτταρο/μL)
Λεμφοκύτταρα	1	2

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Η κυτταρομετρία ροής ενδέχεται να παράγει ψευδή αποτελέσματα αν το κυτταρόμετρο δεν είναι σωστά ευθυγραμμισμένο, αν οι διαρροές φθορισμού δεν έχουν αντισταθμιστεί σωστά και αν οι περιοχές δεν έχουν τοποθετηθεί προσεκτικά.
- Ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα προκύπτουν στο μέτρο που οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι σύμφωνες με το ένθετο τεχνικών οδηγιών και συμβατές με τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές.
- Το συζευγμένο αντίσωμα αυτού του αντιδραστήριου είναι βαθμονομημένο ώστε να προσφέρει την καλύτερη αναλογία ειδικής σήμανσης/μη ειδικής σήμανσης. Γι' αυτό είναι σημαντικό να τηρείτε την αναλογία όγκου αντιδραστήριου/όγκου δείγματος σε κάθε εξέταση.

- Σε περίπτωση υπερλευκοκυττάρωσης, αραιώστε το αίμα σε PBS ώστε να επιτευχθεί τιμή περίπου 5×10^9 λευκοκύτταρα/L (11).
- Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις, όπως η σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ή οι αιμοσφαιρινοπάθειες, η λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να είναι αργή, ατελής ή και ανέφικτη. Σε αυτήν την περίπτωση, συνιστάται η απομόνωση των μονοπύρηνων κυττάρων με διαβάθμιση πυκνότητας (για παράδειγμα Ficoll) πριν από τη χρώση (14).
- Σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπείες με αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα, η ανίχνευση των ειδικών στοχευόμενων αντιγόνων ενδέχεται να είναι μειωμένη ή να απουσιάζει λόγω μερικού ή πλήρους αποκλεισμού από τη θεραπευτική αντίσωμα.
- Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του CD79a-APC θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συνολική κλινική εικόνα του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων των συμπτωμάτων, του κλινικού ιστορικού, των δεδομένων πρόσθετων εξετάσεων και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Δείτε το Παράρτημα για παραδείγματα και παραπομπές.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Η επωνυμία Beckman Coulter, το τυποποιημένο λογότυπο και τα σήματα προϊόντων και υπηρεσιών της Beckman Coulter που αναφέρονται στο παρόν είναι εμπορικά σήματα ή σήματα κατατεθέντα της Beckman Coulter, Inc. στις Ηνωμένες Πολιτείες και σε άλλες χώρες.

ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για ασθενή/χρήστη/τρίτους στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με όμοιο ρυθμιστικό καθεστώς (Οδηγία 2017/746/EU σχετικά με τα *in vitro* διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα), εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, προκύψει σοβαρό περιστατικό, πρέπει να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στις εθνικές αρχές της χώρας στην οποία κατοικείτε.

To Summary of Safety and Performance (Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης) είναι διαθέσιμο στη βάση δεδομένων EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ ΑC:	Ημερομηνία έκδοσης: Οκτώβριος 2019
ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	Ημερομηνία έκδοσης
AW	Φεβρουάριος 2022
Ενημερώσεις για την επίτευξη συμμόρφωσης με την παγκόσμια πολιτική σήμανσης της Beckman Coulter και σύμφωνα με τις απαιτήσεις IVD-R (ΕΕ)2017/746:	
Προσθήκη ενοτήτων	Αριθμός BSI 2797, προβλεπόμενος χρήστης, κλινική συνάφεια, συγκέντρωση, πιστότητα, ακρίβεια, όριο τυφλού και όριο ανίχνευσης, πρόσθετες πληροφορίες, ιστορικό αναθεωρήσεων.
Προσθήκη πληροφοριών	Δείτε τις ενότητες «Περιορισμοί»
Εκφραστικές ή τυπογραφικές ενημερώσεις	Δείτε τις ενότητες «Διαδικασία», «Απόδοση», «Περιορισμοί», «Προειδοποίηση και προφυλάξεις», «Αποθήκευση και σταθερότητα».
Αφαίρεση ενοτήτων	Παράδειγμα κλινικών εφαρμογών, αντιδραστήρια, διεργαστηριακή επαναληψιμότητα, γραμμικότητα
Ενημερωμένες ενότητες	Προβλεπόμενη χρήση, Ταξινόμηση επικινδυνότητας κατά GHS, Ενδείξεις αλλοίωσης, Διαδικασία, Παράρτημα.
ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗ	Ημερομηνία έκδοσης
AX	
Ενημερωμένες ενότητες	Προσθήκη Καζακικών
Ενημερωμένες ενότητες	Φύλαξη και σταθερότητα

Υπόμνημα συμβόλων

Το γλωσσάριο συμβόλων είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση beckman.com/techdocs (αριθμός εγγράφου B60062)

	仕様
特異性	CD79a
クローン	HM47
ハイブリドーマ	NS1 x balb/c
免疫原	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
免疫グロブリン	IgG1
動物種	マウス
精製	アフィニティークロマトグラフィー
蛍光色素	Allophycocyanin (APC)
モル比	APC / Ig : 0.5 - 1.5
励起	633/638 nm
発光のピーク	660 nm
緩衝化剤	PBS(pH 7.2) + 2 mg/mL BSAおよび0.1% NaN ₃

IOTest

コンジュゲート抗体

CD79a-APC

REF B36287 100 試験、1 mL, 10 µL / test

体外診断用医薬品

用途

この蛍光色素結合抗体混合物により、フローサイトメトリーを用いてヒト生物検体に存在するCD79a抗原を発現する細胞集団の定性的かつ非自動での同定が可能になります（以下の「検体」の項を参照）。

原理

このテストは、白血球が発現する抗原決定因子に対する特異的モノクローナル抗体の結合能に基づいています。

モノクローナル蛍光抗体により細胞内抗原決定基を発現するため、白血球の細胞膜および核膜において透過性が誘発されます。その後、白血球がフローサイトメトリーによって分析されます。

フローサイトメーターは、細胞の光拡散および蛍光を測定します。これにより、直角散乱光（側方散乱、SS）および鋭角散乱光（前方散乱、FS）と相関するヒストグラム上で規定した電子枠内で対象集団の限界設定が可能になります。ユーザーが選択したアプリケーションに依存して、サイトメーターで利用可能な種々のパラメーターの2つを組み合わせたその他のヒストグラムが、ゲーティング段階の補助として利用できます。

陽性染色イベントと未染色イベントを鑑別するために、区分した細胞の蛍光を測定します。結果は、ゲーティングで得られた全イベントに対する陽性イベントの比率として表します。

対象ユーザー

本製品は、検査室での専門的な使用を目的としています。

臨床的妥当性

CD79a-APCは、フローサイトメトリーでCD79a抗原を発現する細胞を同定および特性評価するために使用する抗体です。CD79aこの製品だけで診断の結論を下すことはできず、そのように意図されていません。

本製品は、他のマーカーと組み合わせて使用する場合、次の機能の1つまたは複数で使用できます。

- 造血系新生物が疑われる血液学的に異常な患者の鑑別診断を補助し、既知の造血系新生物を有する患者をモニタリングするため。

以下の参考文献を参照してください。

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

検体

静脈血は、抗凝固剤としてEDTA塩を含有する無菌チューブを用いて採取しなければなりません。

検体は室温（18～25°C）で保管し、揺らさないようにする必要があります。検体は、テスト検体を採取する前に、穏やかな搅拌によって均質化する必要があります。

この検体は、静脈穿刺から24時間以内に分析する必要があります。

濃度

www.beckman.comでロット固有の分析証明書を参照してください。

警告および注意

- 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 凍結しないでください。
- 使用前に室温（18～25°C）にしてください。
- 露光をできるだけ避けてください。
- 試薬の微生物汚染を避けてください。誤った結果の原因となる場合があります。
- アジ化ナトリウム（NaN₃）を含む抗体溶液は慎重に扱う必要があります。体内に摂取してはならず、皮膚、粘膜および眼との接触はすべて避けてください。

また、酸性媒体では、アジ化ナトリウムから潜在的危険性のあるアジ化水素酸が生成されることがあります。アジ化ナトリウムを含む試薬を廃棄する必要がある場合、金属製のパイプにアジ化ナトリウムが蓄積しないように、また爆発の危険性を防ぐために、試薬を多量の水で希釈してから排水システムに廃棄することを推奨します。

7. すべての血液検体は感染性の可能性があるとみなして慎重に取り扱う必要があります（特に保護手袋、実験着、ゴーグルの着用）。
8. 絶対に口でピペットを吸わないでください。また、皮膚、粘膜、目に検体が接触しないようにしてください。
9. 使用済みの採血管およびディスポーザブル製品は、焼却用の専用容器に入れて廃棄してください。
10. 試薬や廃棄物は地方自治体の要件に従って廃棄してください。

GHSハザード分類

危険有害物質には分類されない



安全性データシートは、beckman.com/techdocsで入手できます

保管および安定性

この試薬は、バイアル開封の前後に2~8°Cで保管し、遮光する必要があります。

各安定性試験におけるクローズドバイアルの保存期間：730日間

開封後のバイアル：試薬は180日間安定しています。

変質や劣化の兆候

試薬の物理的な外観の変化は劣化の徴候である場合があり、その試薬を使用してはなりません。

追加情報に関して、または損傷している製品をお受け取りになった場合、ベックマン・コールターのカスタマーサービス800-742-2345（米国またはカナダ）にお電話をくださるか、最寄りの代理店に連絡してください。

内容

保存剤のアジ化ナトリウムは、金属製排水管内で爆発性化合物を生成するおそれがあります。NIOSH Bulletinを参照してください：アジド爆発危険性（76/8/16）

アジド化合物が蓄積する可能性を回避するため、未希釈の試薬を廃棄した後は排水管を水で洗い流します。アジ化ナトリウムは地方自治体の規定に従い適切に廃棄してください。

ご用意いただくもの：

- ・サンプリングに必要なサンプリングチューブと材料。
- ・使い捨てチップ付き自動ピペット（100および500 μL用）。10
- ・プラスチックの溶血チューブ。
- ・最適な結果を得るため、以下のいずれかの試薬を使用してください（それぞれの手順に従ってください）。
IntraPrep 細胞膜透過処理試薬（IntraPrep Fixation/Permeabilization 試薬）（製品番号 A07802 または A07803）
PerFix-nc キット（no centrifuge assay kit）、細胞内および細胞外染色調製用（製品番号 B31167 または B31168）
- ・白血球固定試薬。例：IOTest 3 固定液（製品番号 A07800）。
- ・アイソタイプ対照APC：IOTest試薬（製品番号 IM2475）。
- ・緩衝化剤（PBS：0.01 M リン酸ナトリウム、0.145 M 塩化ナトリウム、pH 7.2）。
- ・遠心機
- ・自動アジテーター（ボルテックスタイプ）。
- ・フローサイトメーター

PerFix-nc試薬による手順

以下は、細胞内および細胞外染色調製物用のPerFix-ncキット（遠心機アッセイ無しキット）（製品番号B31167またはB31168）で使用する推奨手順です。

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます（製品番号IM2475）。

キット試薬の調製

PerFix-nc Buffer 1 および 2 試薬

再構成は不要です。どちらの試薬もバイアルからそのまま使用できます。

PerFix-nc Buffer 3 試薬の前処理

Final 1X 試薬はその場で調製します。

濃度 10 倍の PerFix-nc Buffer 3 (Final 10X 溶液) で希釈します。Buffer 3 と水の割合は 1 : 9 です。使用する前に混ぜ合わせてください。その日の実験に必要な分だけ、Final 1X 試薬を調製してください。

1. 血液サンプル 50 μL を、適切なラベルの付いた各チューブの底にピペットで加えます。血液サンプルがチューブの側面に付かないようにしてください。チューブの側面に付いた場合適切に処理されません。
2. 低度固定または高度固定が必要な場合は、5 or 25 μL の固定試薬を各チューブにピッティングします（低度固定または高度固定のプロトコルの詳細については、PerFix-ncの取扱説明書を参照してください）。
3. すぐにボルテックスし、室温 (18 ~ 25°C) で 15 分間培養します。
4. 再度かくはんし、Permeabilizing 試薬 300 μL を各チューブに添加します。その後すぐにかくはんします。

5. すぐに、各チューブに細胞内抗原決定基および表面分子に対する蛍光色素標識抗体 10 μ L を添加します(または、Permeabilizing 試薬に抗体をあらかじめ混ぜ合わせておき、固定手順の最後に一緒に添加しても構いません)。
6. すぐにかくはんし、室温で 15 ~ 30 分インキュベートします。
7. Final 1X 試薬 3 mL (10 倍濃度の Final Solution から調製) を各チューブに添加し、直ちにかくはんします。これでサンプルをフローサイトメーターで分析することができます。

注記：調製液をサイトメトリー分析の前に 24 時間保管する場合、遮光した 2 ~ 8°C 下で保管してください。

INTRAPREP試薬による手順

IntraPrep 細胞膜透過処理試薬 (IntraPrep Fixation/Permeabilization 試薬) (製品番号 A07802 または A07803) を使用する場合に推奨される手順を以下に説明します。

測定する各検体について、テストチューブのほか、アイソタイプ対照存在下で細胞を混合した対照チューブ1本を追加することができます (製品番号 IM2475)。

血液サンプルの場合、3 ~ 10 \times 10³ 個 / μ L の白血球により最適な染色が得られます。白血球濃度が 10 \times 10³ 個 / μ L を超える場合は、希釈してください。(11)。

1. EDTA中にサンプリングした50 μ Lの血液を各チューブに加えます。
2. 各チューブに IntraPrep 試薬 1 (Fixation) 100 μ L を添加します。
3. ポルテックスによりチューブを3~5秒間搅拌します。
4. 遮光した状態で室温 (18 ~ 25°C) で15分間インキュベートします。
5. 各チューブに PBS を 4 mL 加えます。
6. 室温で5分間遠心分離 (300 x g) します。吸引により上清を除去します。
7. 各チューブに 100 μ L の IntraPrep 試薬 2 (透過試薬) を加えます。拡散により混合させます。ポルテックスはかけないでください。
8. 振らずに、室温で5分間インキュベートします。
9. 2~3秒間、手で慎重にチューブを振盪します。
10. 各テストチューブに 10 μ L の特異的 IOTest 結合抗体を加え、必要に応じて 10 μ L のアイソタイプ対照を各対照チューブに加えます。
11. 遮光した状態で、室温 (18 ~ 25°C) で 15 ~ 20 分間インキュベートします。
12. PBS を 4 mL 加え、室温で 5 分間遠心分離 (300 x g) します。
13. 吸引により上清を除去し、細胞ペレットを希釈標準濃度 (1 倍) の IOTest 3 固定液 (製品番号 A07800) 0.5 ~ 1 mL 中に再懸濁します。
14. 調製液はすぐにフローサイトメトリー分析に使用できます。

注記：調製液を 2 時間以内にサイトメトリー分析を行う場合、遮光した 2 ~ 8°C 下で保管してください。このような方法で保管した調製液は、24 時間を超えて保管しないでください。

期待値

弊社検査室では、上記の試薬を用いて見かけ上健常なドナー25名の全血検体を処理しました。本試薬による陽性イベント数測定で得た結果を以下の表に示します。

PerFix-nc 溶解システム：

陽性標的細胞	番号	平均 (%)	SD	CV (%)
リンパ球	25	10.98	4.13	37.60

IntraPrep 溶解システム：

陽性標的細胞	番号	平均 (%)	SD	CV (%)
リンパ球	25	10.02	4.03	40.19

これらの値は、代表的な値であることを意図しています。各検査室は、正常なドナーの現地の集団から独自の期待値を確立してください。

性能

性能データは、以前に抗凝固剤として EDTA 塩を含有する無菌チューブに採取した 24 時間未満経過した血液検体を対象に、上述の手順を用いて取得しなければなりません。分析は、免疫染色後 2 時間以内に行います。

特異性

CD79a 分子は、CD79a/CD79b ジスルフィド結合ヘテロダイマーの一部で、表面免疫グロブリンに非共有結合的に結合し、B 細胞レセプタ (BCR) を形成しています (12)。CD79a の発現は、B 細胞発生の初期に起るため、pro-B 段階でのその局在は細胞質内になります。その後、CD79a は BCR の一部を形成します。膜での発現は、その局在が再び細胞質になる段階、つまり形質細胞段階まで継続します。 (13)。

MAb HM47 は、CD79a 分子の細胞質内エピトープと反応します (13)。1993 年に米国ボストンで開催された 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (第 5 回ヒト白血球分化抗原に関する HLDA ワークショップ) において、CD79a にアサインされました (WS コード : cB017 、セクション B) (13)。

精密性

陽性値の割合は、全血を使用して決定しました。各検体について、2つの装置で各4回を1日に2回、2ロットの CD79a-APC モノクローナル抗体試薬を使用して測定しました。Navios フローサイトメーターで測定 (% 陽性) しました。CLSI メソッド EP5-A2 に基づいて分析しました。Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (定量的測定メソッドの精密性性能の評価。)

当社の判定基準は、各集団について測定された陽性イベントの数によって異なります。

- 陽性イベント < 1,500 の場合、CV < 15%
- 陽性イベント > 1,500 の場合、CV < 10%

PerFix-nc溶解システム :

リンパ球							
陽性イベント数 (平均) = 1026							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV (%)	1.79	0.95	3.88	1.03	1.73	2.97	4.13
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep溶解システム :

リンパ球							
陽性イベント数 (平均) = 880							
	オペレータ間	血球計算器間	ロット内	ロット間	測定間	測定内	総計
CV (%)	1.24	2.36	4.79	1.22	2.36	3.98	5.48
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

正確性

CD79a-APCの正確度は、一連の全血検体についてNaviosフローサイトメーターで測定した標準としての参照試薬と、結果を比較して評価しました。テスト試薬と参照試薬との間のバイアスは、テスト結果の差に基づいて決定しました。バイアスが許容誤差範囲内にある場合、またはp値が有意差を示さない場合 (> 0.05) 、2つの試薬のテスト結果は同等と見なされます。

得られた結果を、下表にまとめます。

PerFix-nc溶解システム :

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	0.32	<3	0.005	PASS

IntraPrep溶解システム :

ドナー数 = 25				
陽性標的細胞	平均Δ	Δ % 細胞基準	p値	結果
リンパ球	0.09	<3	0.659	PASS

プランク上限と検出限界

試験は、CLSI EP17-A2、Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (臨床検査室測定手順の検出能力の評価) に基づいて実施されました。検出限界 (LoD) とは、一貫して検出可能な分析物の最小濃度です。取得した結果は、下表に表示されています。

PerFix-nc溶解システム :

Positive Target	プランク上限 (細胞/ μ L)	検出限界 (細胞/ μ L)
リンパ球	0	4

IntraPrep溶解システム :

Positive Target	プランク上限 (細胞/ μ L)	検出限界 (細胞/ μ L)
リンパ球	1	2

制限事項

1. フローサイトメトリーは、血球計数器が完全に配列されていない場合、蛍光リークが正しく相殺されていない場合、および領域が慎重に配置されていない場合、誤った結果を示す可能性があります。
2. 取扱説明書および対応する検査室の実施基準に従って作業する限り、正確かつ再現性のある結果が得られます。
3. この試薬の結合抗体は、特異的シグナル/非特異的シグナル比が最適となるようにキャリブレーションされています。そのため、各テストでは、試薬量/検体量比を順守することが重要です。
4. 白血球増加症の場合、白血球数がおよそ 5×10^9 個/Lとなるよう、血液をPBSで希釈してください (11) 。
5. 重度の腎不全やヘモグロビン異常など、特定の疾患状態では、赤血球の溶解が遅くなったり、不完全になったり、あるいは溶解できないことがあります。この場合、染色する前に密度勾配 (Ficollなど) を使用して単核細胞を分離することを推奨します (14) 。
6. 抗ヒトモノクローナル抗体療法で治療を受けた患者では、治療用抗体による部分的または完全な遮断により、特定の標的抗原の検出が減少または消失する場合があります。
7. CD79a-APCの結果は、患者の総合的な臨床像、例えば諸症状、病歴、他のテストデータ、その他の該当情報などを踏まえて解釈する必要があります。

附録にある例および参考文献を参照してください。

商標

ここに記載されているBeckman Coulter、ロゴマーク、ならびにベックマン・コールターの製品およびサービスマークは、ベックマン・コールターの米国およびその他の国における商標と登録商標です。

その他

欧州連合、および規制制度が欧州連合と同一の国の患者/ユーザー/第三者 (体外診断医療機器規制2017/746/EU) については、本機器の使用中または使用の結果、重大な事故が発生した場合、製造元および/または認定代理店ならびに所管の行政機関に報告してください。

「安全性および性能の概要」はEUDAMEDデータベース：ec.europa.eu/tools/eudamedより入手できます。

改訂履歴

改訂番号 AC :	発売日 : 2019年10月
改訂	発行日
AW	2022年2月
ベックマン・コールターのグローバルラベリングポリシーおよびIVD-R (EU) 2017/746の要件に準拠するための更新：	
セクションの追加	BSI 2797番号、対象ユーザー、臨床関連性、濃度、精度、正確度、ブランク上限および検出限界、その他、改訂履歴。
情報を追加	「制限事項」のセクションを参照してください
言い回しましたはタイプミスの更新	「手順」、「性能」、「制限」、「警告および注意」、「保管および安定性」のセクションを参照してください。
セクションの削除	臨床応用の例、試薬、検査室内再現性、直線性
セクションの更新	用途、GHSハザード分類、変質や劣化の兆候、手順、附録。
改訂	発行日
AX	
セクションの更新	カザフ語を追加
セクションの更新	コントロールの調製

記号凡例

記号一覧は、beckman.com/techdocsで入手できます（文書番号B60062）

	规格
特异性	CD79a
克隆	HM47
杂交瘤	NS1 x balb/c
免疫原	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
免疫球蛋白	IgG1
种类	小鼠
纯化	亲和色谱法
荧光染料	Allophycocyanin (APC)
摩尔比率	APC/Ig : 0.5 - 1.5
λ 激励	633/638 nm
辐射峰值	660 nm
缓冲液	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 和 0.1% NaN ₃

IOTest 结合抗体

CD79a-APC

[REF] B36287 100 测试 ; 1 mL, 10 µL / test

供体外诊断使用

预期用途

此种荧光染料结合抗体可通过流式细胞术对人体生物样本中存在的 CD79a 抗原表达细胞群进行定性和非自动化鉴别（参阅下文“样本”部分）。

原理

该测试以特异性单克隆抗体能够与白细胞表达的抗原决定簇相结合这一特性为基础。

通过单克隆荧光抗体在白细胞质和细胞核膜中引起渗透证明细胞内抗原的决定因素。再使用流式细胞分析仪分析白细胞。

流式细胞仪可测定细胞的光漫射和荧光。这样可以限定直方图上定义的电子窗口内的感兴趣群体，直方图可以关联光的正交漫射（侧向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。细胞仪上可用的结合两个不同参数的其他直方图可以用于支持设门阶段，具体取决于用户所选的应用。

为了区分阳性染色事件和未染色事件，我们对划定细胞的荧光进行了分析。结果表示为阳性事件相对于设门获得的所有事件的百分比。

预期用户

本产品的预期用户为实验室专业人员。

临床意义

CD79a-APC 是一种 CD79a 抗体，这些抗体用于通过流式细胞术鉴定和表征表达 CD79a 抗原的细胞。单独使用此产品不能产生任何诊断结论，这也并非其预期用途。

与其他标志物结合使用时，本产品可用于以下一种或多种用途：

- 对疑似有造血系统肿瘤的血液学异常患者进行辅助鉴别诊断，并对已知患有造血系统肿瘤的患者进行监测。

参阅以下参考文献：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

样本

必须使用含有 EDTA 盐作为抗凝血剂的无菌试管采集静脉血。

样本应保存在室温 (18-25°C) 条件下，并注意避免摇动。在吸取测试样本之前，应通过轻轻搅动使样本均质化。

样本必须在静脉采血后的 24 小时内分析。

浓度

请参阅 www.beckman.com 上的特定批次分析证书。

警告和注意事项

1. 请勿使用已过失效日期的试剂。
2. 切勿冷冻。
3. 使用前使其达到室温 (18-25°C)。
4. 尽量减少曝光。
5. 避免试剂受到微生物污染，否则可能出现错误结果。
6. 应小心处理含有叠氮化钠 (NaN₃) 的抗体溶液。请勿内服，并避免接触皮肤、粘膜和眼睛。

此外，在中度酸性条件下，叠氮化钠可形成具有潜在危害的叠氮酸。若需要对其进行处置，建议您在将试剂倒入排污系统前用大量清水将其稀释，以避免叠氮化钠在金属管中累积并预防爆炸。

7. 所有血样都必须被视为具有潜在传染性，并且必须小心处理（具体地讲：穿戴防护手套、防护服和护目镜）。
8. 不得通过嘴巴移液，并避免样本以任何方式接触皮肤、黏膜和眼睛。
9. 用于处理的血液试管和一次性材料应丢弃于专门用于焚化的容器中。

10. 应根据当地要求处置试剂和废物。

GHS 危险等级分类

未被归为危险品

SDS

化学品安全技术说明书提供于 beckman.com/techdocs

存储和稳定性

在开瓶前后，必须将此试剂保存在 2-8°C 环境下，并注意避免光照。

根据稳定性研究的开封前保质期：730 天。

已开瓶试剂的稳定性：试剂可稳定保存 180 天。

变质的迹象

试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

有关其他信息，或者如果收到受损产品，请致电贝克曼库尔特公司客服：800-742-2345（美国或加拿大），或联系您当地的贝克曼库尔特代表。

目录

叠氮化钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品 [76/8/16]）。

为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮化钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

试剂盒中未提供的必需材料：

- 采样所需的采样管和材料。
- 可吸取 10100 和 500 μL 试剂的带有一次性吸头的自动移液器。
- 塑料溶血管。
- 若要获取最佳结果，建议您使用下列的一种试剂（遵守相关特殊规程）。
IntraPrep 固定/通透化试剂（参考 A07802 或 A07803）。
- PerFix-nc 套件（no centrifuge assay kit），用于细胞内外染色制品（参考 B31167 或 B31168）。
- 白细胞固定剂。例如：IOTest 3 固定剂（REF A07800）。
- 同型质控品 APC：IOTest 试剂（REF IM2475）。
- 缓冲液（PBS：0.01 M 磷酸钠；0.145 M 氯化钠；pH 7.2）。
- 离心处理。
- 自动搅动器（旋涡型）。
- 流式细胞仪。

PERFIX-NC 试剂的使用程序

以下是搭配使用细胞内和细胞外染色制备用 PerFix-nc 试剂盒（无离心测定试剂盒）（参考号 B31167 或 B31168）的建议规程。

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF IM2475）。

套件试剂备品

PerFix-nc 缓冲液 1 和 2 试剂

无需修复。两种试剂均可直接从瓶中提取使用。

PerFix-nc 缓冲液 3 试剂制备

临时准备的 1X 最终试剂。

将浓度为 10X 的 PerFix-nc 缓冲液 3（10X 最终溶液）在去离子水中稀释：1 μL 缓冲液 3 与 9 μL 水；在使用前充分混合。我们建议您仅准备当天试验所需的 1X 最终试剂量。

- 将 50 μL 血液样品移到每个相应标记的试管底部。避免将血液沾到试管侧面，否则无法正确处理。
- 移取 5 或 25 μL 固定试剂到每个试管中，具体取决于是否需要低或高固定（有关低/高固定方案的详细信息，请参阅 PerFix-nc 使用说明）。
- 在室温(18 – 25°C)下立即旋转并培养 15 分钟。
- 再次摇动固定血液，并将 300 μL 通透化试剂添加到每个试管中；立即摇动。
- 立即将 10 μL 对着细胞表位和表层膜的成对荧光抗体添加到每个试管中（或者可提前将抗体混合到通透化试剂中并通过最后的固定步骤一同添加）。
- 立即摇动，并在室温下将其至少培育 15 - 30 分钟。
- 将 3 mL 1X 最终试剂添加到（取自浓度为 10X 的最终溶液）每个试管中；立即摇动；此时可将样品在流式细胞分析仪上进行分析。

注释：备品可在进行细胞分析前存放 24 小时以上，建议您将其存放在 2-8°C 的条件下并使其避光。

IntraPrep 试剂的使用程序

以下是使用 IntraPrep 固定/通透化试剂（参考 A07802 或 A07803）的建议性规程。

对于分析的每种样本，除使用分析测试试管外，还可增加一个质控品试管，以在其中混合细胞与同型质控品（REF IM2475）。

对于血液样品，使用大量浓度为 3 至 10×10^3 个细胞 /μL 的白细胞获取最佳的染色效果。若白细胞浓度大于 10×10^3 个白细胞 /μL，请将其稀释。（11）。

- 在每个试管中添加 50 μL 采集于 EDTA 中的血液。

2. 在每种管中添加 100 μ L IntraPrep 试剂 1 (固定剂) 。
3. 将试管用力摇动 3 至 5 秒。
4. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15 分钟。
5. 在每个试管中添加 4 mL PBS。
6. 在室温下以 300 \times g 离心处理 5 分钟。通过吸样去除上层清液。
7. 向每个试管中添加 100 μ L 的 IntraPrep 试剂 2 (透化) 。令其通过扩散作用混合。切勿摇动。
8. 在室温下不晃动培育 5 分钟。
9. 用手小心地摇晃试管 2 至 3 秒。
10. 将 10 μ L 特异性 IOTest 结合抗体添加到每个分析测试试管中，并视需要将 10 μ L 同型质控品添加到每个质控品试管中。
11. 在室温 (18–25°C) 下避光孵育 15-20 分钟。
12. 添加 4 mL 的 PBS 并在室温下以 300 \times g 离心处理 5 分钟。
13. 吸取出上层清液，并在 0.5 至 1 mL 工作浓度 (1X) 的 IOTest 3 固定液 (参考号 A07800) 中重悬细胞团块。
14. 制剂可随时用于进行细胞仪分析。

注：若备品将要在进行细胞分析前存放 2 小时以上，建议您将其存放在 2-8°C 的条件下并使其避光。但是，备品的存放时间不得超过 24 小时。

预计值

我们在实验室中采用上述试剂处理了 25 名表观健康供体的全血样本。使用该试剂进行阳性目标颗粒计数得到的结果如下表所示：

PerFix-nc 裂解系统：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	10.98	4.13	37.60

IntraPrep 裂解系统：

阳性目标	数量	平均值 (%)	标准差	CV (%)
淋巴细胞	25	10.02	4.03	40.19

这些值仅供参考。各实验室应通过当地正常供体群体确定自己的预期值。

性能

使用上文描述的程序，通过分析之前采集在无菌试管（含有 EDTA 盐作为抗凝血剂）中未达 24 小时的血液样本获得了性能数据。在免疫染色后的 2 小时内进行分析。

特异性

CD79a 分子是 CD79a/CD79b 二硫键连接异二聚体的一部分，可与表面免疫球蛋白非共价结合而形成 B 细胞受体 (BCR) (12)。CD79a 的表达出现在 B 细胞个体发生早期，因此在 pro-B 阶段其定位于细胞质中。随后，CD79a 形成 BCR 的一部分。CD79a 的细胞膜表达最多持续到浆细胞阶段，在该阶段其再次定位于细胞质中 (13)。

MAb HM47 可与 CD79a 分子的胞浆内表位发生反应 (13)。在 1993 年于美国波士顿举办的 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (第 5 届 HLDA 人类白细胞分化抗原会议) 上，其被分配到 CD79a (WS 代码 : cB017 , B 部分) (13)。

精度

阳性百分比值用全血测定。每份样本使用 2 个批次的 CD79a-APC 单克隆抗体试剂，在 2 台仪器上运行 4 次，每天 2 次，持续 1 天。使用 Navios 流式细胞仪进行测量 (阳性 %)。分析基于 CLSI method EP5-A2 : Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (CLSI 方法 EP5-A2 : 定量测量方法精度性能的评估) 。

我们的接受限取决于针对每个群体所测得的阳性颗粒数：

- 如果阳性颗粒数 < 1,500，则 CV < 15%
- 如果阳性颗粒数 > 1,500，则 CV < 10%

PerFix-nc 裂解系统：

淋巴细胞							
阳性颗粒数 (平均值) = 1026							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.79	0.95	3.88	1.03	1.73	2.97	4.13
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep 裂解系统：

淋巴细胞							
阳性颗粒数 (平均值) = 880							
	操作人员间	细胞仪间	批次内	批次间	运行间	运行内	总数
CV (%)	1.24	2.36	4.79	1.22	2.36	3.98	5.48
结果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

准确性

评估 CD79a-APC 的准确性的方法为：将其与参考试剂分别应用于一组全血样本，然后用 Navios 流式细胞仪进行检测，之后比较结果。该测试与参考试剂之间的偏差根据测试结果的差异而确定。如果偏差在允许的错误范围内，或者 p 值没有显著差异 (> 0.05)，则认为这两种试剂的测试结果是等效的。

所得结果如下表所示：

PerFix-nc 裂解系统：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	0.32	<3	0.005	PASS

IntraPrep 裂解系统：

献血人次 = 25				
阳性目标	平均值 Δ	Δ % 细胞标准	p 值	结果
淋巴细胞	0.09	<3	0.659	PASS

空白检测限和检测限

研究人员根据 CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2 临床实验室测量程序检测能力的评估) 进行了一项研究。检测限 (LOD) 指可被一致检出的最低分析物浓度。所得结果如下表所示：

PerFix-nc 裂解系统：

Positive Target	空白检测限 (个细胞/μL)	检测限 (个细胞/μL)
淋巴细胞	0	4

IntraPrep 裂解系统：

Positive Target	空白检测限 (个细胞/μL)	检测限 (个细胞/μL)
淋巴细胞	1	2

限制

- 若流式细胞术未完全校准、荧光泄漏未得到正确补偿或未在该区域谨慎定位，则流式细胞术可能会产生错误结果。
- 只要所使用的程序符合技术插页说明书并遵守实验室管理规范，就可以获得准确和可重现的结果。
- 校准该试剂的结合抗体，以提供最佳的特异性信号/非特异性信号比率。因此，在每次测试中都务必遵从此试剂体积/样本体积比率。
- 如果白细胞过多，请在 PBS 中稀释血液，使白细胞浓度降低到约 5×10^9 个/L (11)。
- 在严重肾衰竭、血红蛋白病等特定疾病状态中，红细胞裂解会变得缓慢、不完全，甚至无法实现。在这种情况下，建议在染色前通过密度梯度（例如聚蔗糖）分离单核细胞 (14)。
- 接受抗人单克隆抗体治疗的患者可能会因治疗抗体的部分或完全阻断而难以或无法检测特定的靶抗原。
- 在判读 CD79a-APC 结果时，需参照患者的整体临床表现，包括：症状、临床病史、其他检查数据和其他适用的信息。

请参阅附录中的示例和参考文献。

商标

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是美国贝克曼库尔特有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

其他信息

对于欧盟及具有相同监管制度的国家/地区的患者/用户/第三方 (Regulation 2017/746/EU on In vitro Diagnostic Medical Devices [有关体外诊断医疗装置的法规 2017/746/EU])：如果在使用本装置期间或由于使用本装置而发生严重事件，请向制造商和/或其授权代表以及当地国家主管部门报告。

Summary of Safety and Performance (安全和性能摘要) 提供在 EUDAMED 数据库中：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修订历史

修订版本 AC :	发布日期 : 2019 年 10 月
修订	发布日期
AW	
更新文档以符合贝克曼库尔特公司全球标签政策和 IVD-R (EU)2017/746 的要求：	2022 年 2 月
新增章节	BSI 2797 编号、预期用户、临床意义、浓度、精度、准确性、空白检测限和检测限、其他信息、修订记录。
添加了信息	参阅“限制”章节
更新了措辞或版面	参阅程序、性能、限制、警告和注意事项、储存和稳定性章节。
删除了几个章节	临床应用示例、试剂、实验室重复性、线性度
更新后章节	预期用途、GHS 危险等级分类、变质的迹象、程序、附录。
修订	发布日期
AX	
更新后章节	添加哈萨克语
更新后章节	储存及稳定性

符号注解

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs (文档编号 B60062)

	Specifikacijos
Specifiškumas	CD79a
Klonas	HM47
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogenas	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulinės	IgG1
Rūšis	Pelē
Išgryninimas	Giminingumo chromatografija
Fluorochromas	Allophycocyanin (APC)
Molinis santykis	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ žadinimas	633/638 nm
Spinduliuotės smailė	660 nm
Buferinis tirpalas	7,2 pH fosfato buferinis tirpalas plius 2 mg/ml GSA ir 0,1 % NaN ₃

„IOTest“

Konjuguotas antikūnas CD79a-APC

[REF] B36287 100 testų; 1 ml, 10 µl / test

In vitro diagnostiniams naudojimui

NAUDOJIMO PASKIRTIS

Naudojant šį su fluorochromu konjuguotą antikūną, srauto citometrijos būdu galima kokybiškai ir neautomatizuotu būdu identifikuoti ląstelių populiacijas, išreiškiančias CD79a antigeną, esantį žmogaus biologiniuose mėginiuose (žr. paskesnį skyrių „Mėginiai“).

PRINCIPAS

Šis tyrimas pagrįstas specifinių monokloninių antikūnų gebėjimu jungtis prie antigenų determinantų, kuriuos ekspresuoja leukocitai.

Sukuriamas leukocitų citoplazminės membranų pralaidumas, norint monokloniniais fluorescenciniais antikūnais parodyti vidulastelinės antigenines determinantės. Leukocitai tada analizuojami tékmės citometrijos būdu.

Srauto citometru matuojama ląstelių šviesos sklaida ir fluorescencija. Šiuo būdu galima tiriamają populiaciją apriboti histogramoje apibrėžtu elektroniniu langu, kuris koreliuoja su šviesos sklaida stačiu kampu (šonine sklaida arba SS) ir šviesos sklaida smailu kampu (priekine sklaida arba FS). Kitos citometre įdiegtos histogramos, kuriose derinami du skirtinės parametrai, gali būti naudojamos kaip papildoma priemonė nustatant atrankos intervalus, žiūrint, kokį naudojimo būdą pasirinko naudotojas.

Analizuojant apribotą ląstelių fluorescenciją, teigiamai nudažyti įvykiai atskiriami nuo neigiamai nudažytų. Rezultatai išreiškiami kaip teigiamų įvykių procentinė dalis visų įvykių, gautų nustačius atrankos intervalą, atžvilgiu.

NUMATOMAS NAUDOTOJAS

Šis gaminys skirtas naudoti specialistams laboratorijoje.

KLINIKINĖ SVARBA

CD79a-APC yra CD79a antikūnas, naudojamas CD79a antigeną ekspresuojančioms ląstelėms identifikuoti ir charakterizuoti srauto citometrijos būdu. Naudojant vien ši gaminį negalima padaryti jokios diagnostinės išvados ir jis nėra tam skirtas.

Kartu su kitais žymenimis naudojamas šis gaminys gali būti naudojamas vienu ar keliais iš toliau nurodytų tikslų.

- Hematologiškai nenormalių pacientų, kuriems įtariama kraujodaros sistemos neoplazma, diferencinei diagnozei palengvinti ir pacientams, kuriems jau nustatyta kraujodaros sistemos neoplazma, stebėti.

Žr. šias nuorodas:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MĖGINIAI

Veninio krauko mėginius reikia imti į sterilius mėgintuvėlius su EDTA druska kaip antikoagulantu.

Mėginius reikia laikyti kambario temperatūroje (18–25 °C) ir nekratyti. Prieš paimant tiriamajį mėginį reikia atsargiai sujudinti mėginus, kad jieaptų vienalyčiai.

Mėginiai turi būti išanalizuoti per 24 valandas po venų punkcijos.

KONCENTRACIJA

Žr. konkrečios partijos analizės sertifikatą, pateikiama interneto svetainėje www.beckman.com.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. Reagento nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Neužšaldyti.
3. Prieš naudojant reikia leisti sušilti iki kambario temperatūros (18–25 °C).
4. Laikykite kuo mažiau apšviestoje vietoje.
5. Saugokite, kad reagentai nebūtų užterštū mikrobais, nes antraip gali būti gaunami klaudingi rezultatai.
6. Su antikūnų tirpalais, kurių sudėtyje yra natrio azido (NaN₃), reikia elgtis atsargiai. Nevartokite į vidų ir saugokite, kad nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.

- Be to, rūgščioje terpéje natrio azidas gali išskirti potencialiai pavojingą hidrazo rūgštį. Jei ji reikia pašalinti, prieš pilant į nutekėjimo sistemą, reagentą rekomenduojama praskiesti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta natrio azido kaupimosi metaliniuose vamzdžiuose ir išvengta sprogimo pavojus.
- 7. Visi kraujos mėginiai turi būti laikomi potencialiai užkrečiamais ir su jais turi būti elgiamasi atsargai (itin svarbu dėvėti apsaugines pirštines, apsiaustus ir akinius).
 - 8. Jokiui būdu nesiurbkite burna ir saugokite, kad mėginių nepatektų ant odos, gleivinės ir į akis.
 - 9. Panaudoti kraujos mėgintuvėliai ir vienkartinės medžiagos turėtų būti išmetami į sudeginamas ad hoc talpyklas.
 - 10. Reagentai ir atliekos turi būti šalinami pagal vietinius reikalavimus.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga



Saugos duomenų lapą galima gauti internete svetainėje beckman.com/techdocs

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Prieš atidarant ir atidarius buteliuką reagentas turi būti laikomas 2–8 °C temperatūroje ir saugomas nuo šviesos.

Uždaryto buteliuko tinkamumo naudoti laikas pagal stabilumo tyrimą: 730 d.

Atidaryto buteliuko stabilumas: reagentas lieka stabilus 180 d.

KOKYBĖS PABLOGĖJIMO POŽYMIAI

Bet koks reagentų fizinės išvaizdos pokytis gali reikšti pablogėjusias gaminio savybes, todėl tokio reagento naudoti negalima.

Prieikus papildomos informacijos arba gavę sugadintą gaminį skambinkite į „Beckman Coulter“ klientų aptarnavimo skyrių telefonu 800-742-2345 (JAV arba Kanadoje) arba susisiekite su vietiniu „Beckman Coulter“ atstovu.

TURINYS

Natrio azido konservantas metalo vamzdynuose gali sudaryti sprogiuosius junginius. Žr. „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (Nacionalinio darbų saugos ir sveikatos instituto biuletenė: sprogstamojo azido pavojus) (76-8-16).

Norėdami išvengti galimo azido junginių susikaupimo, išpyly į kanalizacijos sistemą neatskiesto reagento, vandeniu praplaukite nutekamuosius vamzdžius. Natrio azidas turi būti šalinamas pagal taikomų vietas reglamentų reikalavimus.

REIKALINGOS, BET SU RINKINIU NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

- Mėginiams imti reikalingi mėginių émimo mėgintuvėliai ir medžiagos.
- Automatinės pipetės su vienkartiniais antgaliais, skirtos 10, 100 ir 500 µl tūrio mėginiams.
- Plastikiniai hemolizės mėgintuvėliai.
- Norint gauti optimalius rezultatus, rekomenduojama naudoti bet kurį iš toliau pateiktų reagentų (vykdykite susijusią specifinę procedūrą):
„IntraPrep“ fiksavimo / pralaidumo didinimo reagentas (nuor. A07802 arba A07803)
„PerFix-nc“ rinkinys (no centrifuge assay kit), vidulasteliniam ir ekstralasteliniam dažymui atliki (nuor. B31167 arba B31168)
- Leukocitų fiksavimo reagentas. Pavyzdys: fiksavimo tirpalas „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Izotipų kontrolinė medžiaga APC: „IOTest“ reagentas (kat. Nr. IM2475).
- Buferinis tirpalas (fosfato buferinis tirpalas: 0,01 M natrio fosfato; 0,145 M natrio chlorido; pH 7,2).
- Nucentrifuguokite.
- Automatinis maišytuvas (sūkurinio tipo).
- Srauto citometras.

PROCEDŪRA NAUDIJANT REAGENTĄ „PERFIX-NC“

Toliu aprašyta rekomenduojama rinkinio „PerFix-nc“ (necentrifuguont atliekamo tyrimo rinkinio) vidulasteliniam ir užlasteliniam dažymui atliki (kat. Nr. B31167 arba B31168) naudojimo procedūra.

Analizuojant kiekvieną mėginių, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriaame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. IM2475).

RINKINIO REAGENTO PARUOŠIMAS

„PerFix-nc“ 1 ir 2 buferinės medžiagos reagentai

Skirsti nereikia. Abu reagentus galima naudoti tiesiai iš flakono.

„PerFix-nc“ 3 buferio reagento paruošimas

Iškart paruoškite galutinį 1X reagentą.

10X koncentruotą „PerFix-nc“ 3 buferinę medžiagą (galutinis 10X tirpalas) atskieskite dejonizuotu vandeniu: 1 3-iosios buferinės medžiagos tūrij atskieskite 9 vandens tūriais. Prieš naudodamis gerai išmaišykite. Rekomenduojame paruošti tik dienos eksperimentams atliki būtiną galutinio 1X reagento tūri.

1. Pipete 50 µl kraujos mėginio įpilkite į kiekvieno tinkamai pažymėto mėgintuvėlio dugną. Kraują nepilkite ant mėgintuvėlio krašto; priešingu atveju jis nebus tinkamai apdorotas.
2. Į kiekvieną mėgintuvėlį pipete įlašinkite po 5 or 25 µl fiksavimo reagento, atsižvelgiant į tai, ar reikia silpno, ar stipraus fiksavimo (išsami informacija apie silpno / stipraus fiksavimo protokolus pateikiama „PerFix-nc“ naudojimo instrukcijoje).
3. Nedelsiant išmaišykite ir inkubuokite 15 min kambario temperatūroje (18 – 25 °C).
4. Fiksuočią kraują vėl išmaišykite ir į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite 300 µl pralaidumo didinimo reagento; iškart išmaišykite.

- Į kiekvieną mėgintuvėlį iškart įpilkite 10 µl su fluorochromu konjuguotu antikūnu nuo vidulaštelinų epitopų ir paviršiaus molekulių (kitai antikūnus galima iš anksto sumaišyti su pralaidumo didinimo reagentu ir įpilti kartu baigiant fiksavimo veiksmą).
- Iškart išmaišykite ir 15 - 30 min. inkubuokite kambario temperatūroje.
- Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite 3 ml galutinio 1X reagento (paruošto iš 10X koncentruoto galutinio tirpalo); iškart išmaišykite; mėginys dabar paruoštas analizei tékmės citometru atlikti.

PASTABA. Preparatus galima laikyti 24 val. prieš citometrinę analizę, juos patariama laikyti 2–8 °C temperatūroje ir saugoti nuo šviesos.

PROCEDŪRA NAUDOJANT REAGENTĄ „INTRAPREP“

Toliau pateikta rekomenduojama procedūra naudojant „IntraPrep“ fiksavimo / pralaidumo didinimo reagentą (nuor. A07802 arba A07803).

Analizuojant kiekvieną mėginį, be tiriamojo mėgintuvėlio galima naudoti vieną kontrolinį mėgintuvėlį, kuriame ląstelės sumaišytos su izotipine kontroline medžiaga (kat. Nr. IM2475).

Tiriant krauso mėginį, optimaliai nudažoma naudojant nuo 3 iki 10×10^3 ląstelių/µl leukocitų skaičių. Jei leukocitų koncentracija didesnė nei 10×10^3 ląstelių/µl, atskieskite (11).

- Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 50 µl į EDTA paimto krauso.
- Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite 100 µl „IntraPrep“ 1 reagento (fiksavimas).
- Mėgintuvėlius intensyviai sūkuriniu būdu maišykite 3–5 sekundes.
- 15 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
- Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 4 ml fosfato buferinio tirpalo.
- 5 minutes centrifuguokite veikiant 300 x g jégai kambario temperatūroje. Išsiurbdami pašalinkite supernatantą.
- Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 100 µl „IntraPrep“ 2 reagento (laidumo sudarymo reagento). Leiskite medžiagoms susimaišyti sklaidos būdu. **NEMAISYKITE SÜKURINIU BÜDU.**
- 5 minutes inkubuokite kambario temperatūroje ir nekratykite.
- Mėgintuvėlius atsargiai rankiniu būdu kratykite 2–3 sekundes.
- Į kiekvieną tiriamajį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl specifinio su „IOTest“ konjuguoto antikūno ir prieikus į kiekvieną kontrolinį mėgintuvėlį įpilkite po 10 µl kiekvieno izotipo kontrolinės medžiagos.
- 15–20 minučių inkubuokite kambario temperatūroje (18–25 °C), saugodami nuo šviesos.
- Įpilkite 4 ml fosfato buferinio tirpalo ir 5 minutes centrifuguokite veikiant 300 x g jégai kambario temperatūroje.
- Išsiurbdami pašalinkite supernatantą ir iš naujo suspenduokite ląstelių nuosėdas, naudodami 0,5–1 ml darbinės koncentracijos (1X) fiksavimo tirpalo „IOTest 3“ (kat. Nr. A07800).
- Preparatai paruošti citometrinei analizei.

PASTABA. Jei preparatai bus laikomi ilgiau nei 2 val. prieš citometrinę analizę, juos patariama laikyti 2–8 °C temperatūroje ir saugoti nuo šviesos. Tačiau taip laikomu preparatų nelaikykite ilgiau nei 24 val.

TIKĖTINOS VERTĖS

Mūsų laboratorijoje 25 tariamai sveikų donorų viso krauso mėginiai buvo apdoroti pirmiau aprašytu reagentu. Tolau pateiktoje lentelėje nurodyti dominančių teigiamų įvykių skaičiaus rezultatai, gauti naudojant šį reagentą.

Lizavimo sistema „PerFix-nc“:

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	10,98	4,13	37,60

Lizavimo sistema „IntraPrep“:

Teigiamas taikinys	Skaičius	Vidurkis (%)	SN	VK (%)
Limfocitai	25	10,02	4,03	40,19

Šios vertės tėra reprezentacinės. Kiekviena laboratorija turi iš vietinės normalių donorų populiacijos nustatyti savo numatomas vertes.

VEIKIMAS

Veikimo duomenys gauti, pirmiau aprašytą procedūrą atliekant su mažiau nei 24 val. senumo mėginiais, kurie buvo anksčiau paimti į sterilius mėgintuvėlius su antikoagulantu EDTA druska. Analizė atliekama ne vėliau kaip 2 val. po imunodažymo.

SPECIFIŠKUMAS

CD79a molekulė yra CD79a / CD79b disulfidu susieto heterodimero dalis, nekovalentiškai surišta su paviršiaus imunoglobulinais, sudarant B ląstelių receptorius (BCR) (12). CD79a ekspresija prasideda ankstyvojoje B ląstelių ontogenezėje todėl pro-B stadioje ji lokalizuojama citoplazmoje. Vėliau CD79a sudaro BCR dalį. Jos ekspresija membranoje tėsiasi iki pat plazmocitinės stadijos, kurioje ji vėl lokalizuojama citoplazmoje (13).

MAb HM47 reaguoja su CD79a molekulės intracitoplazminiu epitopu (13). Grupei CD79a jis buvo priskirtas per „5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (5-ają konferenciją dėl žmogaus leukocitų diferencijavimo antigenų (ŽLDA), vykusią Bostone, JAV, 1993 m. (WS kodas: cB017, B skyrius) (13).

GLAUDUMAS

Procentinės teigiamosios vertės nustatytos naudojant visą kraują. Kiekvienas mėginys buvo analizuojamas 4 kartus: 1 diena, po du kartus, naudojant 2 prietaisus ir 2 CD79a-APC monokloninių antikūnų reagentų partijas. Matavimai (% teigiamų) buvo atlikti srauto citometru „Navios“. Analizė atlikti pagal „CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ (CLSI metodą EP5-A2 „Kiekybiinių matavimo metodų glaudumo veikimo vertinimas“).

Mūsų priėmimo kriterijai priklauso nuo kiekvienoje populiacijoje nustatyto teigiamų įvykių skaičiaus:

- jeigu teigiamų įvykių < 1 500, VK < 15 %
- Jeigu teigiamų įvykių > 1 500, VK < 10 %

Lizavimo sistema „PerFix-nc“:

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 1026							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometru	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Lizavimo sistema „IntraPrep“:

Limfocitai							
Teigiamų įvykių skaičius (vidurkis) = 880							
	Skirtingų operatorių	Skirtingų citometru	Tos pačios partijos	Skirtingų partijų	Skirtingų analizių	Tos pačios analizės	Iš viso
VK (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
REZULTATAI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TIKSLUMAS

CD79a-APC tikslumas vertintas palyginant rezultatus su etaloniniu reagentu kaip patvirtinamaja priemone, srauto citometru „Navios“ analizuojant viso krauko mėginių rinkinį. Bandomojo ir etaloninio reagentų paklaida nustatyta pagal tyrimo rezultatų skirtumą. Jeigu paklaida neviršija leidžiamojo paklaidų diapazono arba p reikšmė nerodo reikšmingo skirtumo (> 0,05), abiejų reagentų tyrimo rezultatai laikomi lygiaverčiais.

Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Lizavimo sistema „PerFix-nc“:

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % lastelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	0,32	<3	0,005	PASS

Lizavimo sistema „IntraPrep“:

Donorų skaičius = 25				
Teigiamas taikinys	Vidurkis Δ	Δ % lastelių kriterijai	p reikšmė	REZULTATAI
Limfocitai	0,09	<3	0,659	PASS

RUOŠINIO RIBA IR APTIKIMO RIBA

Pagal CLSI EP17-A2 dokumentą „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Klinikinių laboratorinių matavimų procedūrų aptikimo pajėgumų vertinimas) atliktas mokslinis tyrimas. Aptikimo riba (LOD) yra mažiausioji analitės koncentracija, kurią galima nuolat aptikti. Gauti rezultatai apibendrinti toliau pateiktoje lentelėje.

Lizavimo sistema „PerFix-nc“:

Positive Target	Ruošinio riba (last./ul)	Aptikimo riba (last./ul)
Limfocitai	0	4

Lizavimo sistema „IntraPrep“:

Positive Target	Ruošinio riba (last./ul)	Aptikimo riba (last./ul)
Limfocitai	1	2

RIBOJIMAI

- Atliekant srauto citometriją klaudingi rezultatai gali būti gauti tuo atveju, jei citometras nebuvu tiksliai sureguliuotas, fluorescencijos nuotekai nebuvu tinkamai kompensuoti ar regionai nebuvu kruopščiai išdėstyti.
- Tikslūs ir atkuriami rezultatai bus gaunami tol, kol naudojamos procedūros atitiks techniniame lapelyje pateiktą informaciją ir bus atliekamos laikantis geros laboratorijos praktikos.
- Šio reagento konjuguotas antikūnas sukalibruiotas taip, kad būtų gaunamas geriausias specifinio ir nespecifinio signalų santykis. Dėl šios priežasties atliekant kiekvieną tyrimą svarbu tiksliai laikytis nurodyto reagento ir mėgino tūrių santykio.
- Hiperleukocitozės atveju kraują atskieskite fosfato buferiniu tirpalu, kad gautumėte maždaug 5×10^9 leukocitų/l koncentraciją (11).
- Sergant kai kuriomis ligomis, pavyzdžiui, sunkiu inkstų nepakankamumu arba hemoglobinopatiomis, eritrocitai gali būti lėtai arba nevisiskai sulizuojami arba jų visai neįmanoma lizuoti. Tokiu atveju rekomenduojama prieš dažant atskirti vienbranduoless ląsteles tankio gradienčio būdu (pavyzdžiu, Ficollo) (14).
- Jeigu pacientams atliekama žmogaus monokloninių antikūnų terapija, specifiniai tiksliniai antigenai gali būti aptinkami prasčiau arba visai neaptinkami dėl dalinio arba visiško terapinio antikūno blokavimo.
- CD79a-APC rezultatai turi būti interpretuojami remiantis bendra paciento klinikine būkle, atsižvelgiant į: simptomus, klinikinę anamnezę, papildomų tyrimų duomenis ir kitą atitinkamą informaciją.

Pavyzdžiai ir nuorodos pateikti priede.

PREKIŲ ŽENKLAI

„Beckman Coulter“, stilizuotas logotipas ir kiti šiame dokumente nurodyti „Beckman Coulter“ gaminiai ir prekių ženklai yra „Beckman Coulter, Inc.“ prekių ženklai arba registruotieji prekių ženklai Jungtinėse Amerikos Valstijose ir kitose šalyse.

PAPILDOMA INFORMACIJA

Pacientams / naudotojams / trečiosioms šalims Europos Sajungoje ir šalyse, kuriose galioja identiški reguliaciniai reikalavimai (Reglamentas (ES) 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos priemonių): jeigu naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko sunkus incidentas, apie jį praneškite gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir savo šalies nacionalinei institucijai.

„Summary of Safety and Performance“ (Saugos ir veikimo suvestinė) pateikiama EUDAMED interneto svetainėje ec.europa.eu/tools/eudamed.

PERŽIŪRŲ ISTORIJA

PERŽIŪRA AC:	Leidimo data: 2019 m. spalis
PERŽIŪRA	Leidimo data
AW	2022 m. vasaris
Atnaujinta pagal „Beckman Coulter“ visuotinių ženklinimo taisyklių ir IVD-R (ES)2017/746 reikalavimus.	
Pridėti skyriai	BSI 2797 numeris, „Numatomas naudotojas“, „Klinikinė svarba“, „Koncentracija“, „Glaudumas“, „Tikslumas“, „Ruošinio riba ir aptikimo riba“, „Papildoma informacija“, „Peržiūrų istorija“.
Pridėta informacija	Žr. skyrių „Ribojimai“
Frazavimo arba tipografiniai atnaujinimai	Žr. skyrius „Procedūra“, „Veikimas“, „Ribojimai“, „Ispėjimai ir atsargumo priemonės“, „Laikymas ir stabilumas“.
Pašalinti skyriai	„Klinikinio naudojimo pavyzdys“, „Reagentai“, „Laboratorijos vidaus atkartojamumas“, „Tiesiškumas“
Atnaujinti skyriai	„Paskirtis“, „Visuotiniai suderintos sistemos (GHS) pavojingumo klasifikacija“, „Kokybės pablogėjimo požymiai“, „Procedūra“, priedas.
PERŽIŪRA	Leidimo data
AX	
Atnaujinti skyriai	Pridėta kazachų kalba
Atnaujinti skyriai	Laikymas ir stabilumas

Simbolių sutartiniai ženklai

Simbolių terminų žodynas pateikiamas interneto svetainėje beckman.com/techdocs (dokumento numeris B60062).

	Specifikációk
Specificitás	CD79a
Klón	HM47
Hibridóma	NS1 x balb/c
Immunogén	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunglobulin	IgG1
Faj	Egér
Tisztítás	Affinitáskromatográfia
Fluorokróm	Allophycocyanin (APC)
Moláris arány	APC / Ig: 0,5 - 1,5
λ gerjesztés	633/638 nm
Kibocsátási csúcs	660 nm
Puffer	PBS pH 7,2 plusz 2 mg/mL BSA és 0,1% NaN ₃

IOTest

Konjugált antitest

CD79a-APC

[REF] B36287 100 teszt; 1 mL, 10 µL / test

In vitro diagnosztikai használatra.

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Ez a fluorokrómmal konjugált antitest lehetővé teszi a humán biológiai mintákban a(z) CD79a antigént expresszáló sejtpopulációk áramlási citometriával végzett kvalitatív és nem automatizált azonosítását (lásd a „Minták” című alábbi fejezetet).

MŰKÖDÉSI ELV

A vizsgálat azon alapul, hogy a specifikus monoklonális antitestek képesek-e kötődni a leukociták által expresszált antigén-determinánsokhoz.

A leukociták citoplazmatikus membrányaiban permeabilitást hoz létre az intracelluláris antigén determinánsok demonstrálásának céljából, monoklonális fluoreszcens antitestek révén. A leukocitákat ezután áramlási citometria révén elemzi.

Az áramlási citométer a sejtek fényszórását és fluoreszcenciáját méri. Ez lehetővé teszi a vizsgált populáció elhatárolását egy olyan elektronikus ablakon belül, amelyet a derékszögben szórt fény (oldalszóródás vagy SS) és a hegyes szögben szórt fény (előreszóródás vagy FS) intenzitását összehasonlító hisztogramon határoztak meg. Más, a citométer által mértek közül két paramétert kombináló hisztogramok használhatók kiegészítésként a kapuzási fázisban, a felhasználó által választott alkalmazástól függően.

Az elkülönített sejtek fluoreszcenciáját a rendszer elemzi a pozitívan festődött események megkülönböztetésére a nem festődöttktől. Az eredmények kifejezése a pozitív események százalékos arányaként történik a kapuzás által regisztrált összes eseményhez képest.

CÉLFELHASZNÁLÓ

Ez a termék laboratóriumi szakemberek általi használatra készült.

KLINIKAI JELENTŐSÉG

A CD79a-APC egy CD79a antitest, amely a(z) CD79a antigént expresszáló sejtek áramlási citometriás azonosítására és jellemzésére szolgál. Ez a termék önmagában nem képes arra, és nem is arra a cérra lett kialakítva, hogy bármilyen diagnosztikai következtetést generáljon.

Más markerekkel kombinált használata esetén ez a termék az alábbiak közül egy vagy több funkcióra használható:

- Segít azon rendellenes vérképű betegek differenciáldiagnózisában, akiknél hemopoetikus neoplasia gyanítható, valamint segít az ismert hemopoetikus neoplasiával rendelkező betegek monitorozásában.

Lásd a következő hivatkozásokat:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MINTÁK

A vénás vért steril, alvadásgátlóként EDTA sóját tartalmazó csövekbe kell gyűjteni.

A mintákat szobahőmérsékleten (18–25 °C között) kell tárolni, és nem szabad felrázni. A tesztminta vétele előtt a mintákat homogenizálni kell óvatos rázással.

A minták elemzését a vénaszúráshoz képest 24 órán belül el kell végezni.

KONCENTRÁCIÓ

Lásd: www.beckman.com, tételespecifikus analitikai bizonylat.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- Ne használja a reagenst a lejárati időn túl.
- Fagyasztani tilos.
- Használat előtt hagyja felmelegedni szobahőmérsékletre (18–25 °C).
- Minimalizálja a fényexpozíciót.
- Kerülje el a reagensek mikrobiális kontaminációját, ebben az esetben hamis eredményeket kaphat.
- A nátrium-azidot (NaN₃) tartalmazó antitestoldatokat körültekintően kell kezelni. A terméket nem szabad lenyelni, és nem érintkezhet bőrrel, nyálkahártyával vagy a szemmel.

Sőt, savas közegben a nátrium-azid potenciálisan robbanékony nitrogén-hidrogénsavat képez. Ha ártalmatlanítani kell, javasolt a reagenst nagy mennyiségű vízzel hígítani a szennyvízcsatornába öntés előtt, hogy ne halmozódhasson fel nátrium-azid a fémcsövekben, és ne keletkezzen robbanásveszély.

7. minden vérmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és óvatosan kell kezelni (azaz védőkesztyűt, köpenyt és szemüveget viselve).
8. Soha ne pipettázzon szájjal, és a minták soha ne érintkezzenek szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyával!
9. A vércsöveket és a kezeléshez használt, egyszer használatos anyagokat olyan ad hoc tartóedényben kell kidobni, amely égetésre szolgál.
10. A reagenset és a hulladékot a helyi követelmények szerint kell ártalmatlanítani.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva



A biztonsági adatlap elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A reagenst a fiola kibontása előtt és után is 2 és 8 °C között, fénytől védve kell tárolni.

A lezárt fiola eltarthatósági ideje a stabilitási vizsgálat alapján: 730 nap.

A felbontott fiola stabilitása: a reagens 180 napig stabil.

A MINŐSGROMLÁS JELEI

A reagensek fizikai megjelenésének bármilyen megváltozása meggomlásra utalhat, és a reagenst nem szabad felhasználni.

További információkért, illetve sérült termék kézhezvételle esetén hívja a Beckman Coulter ügyfélszolgálatát a 800-742-2345-es számon (az Amerikai Egyesült Államokban és Kanadában), vagy lépjön kapcsolatba a Beckman Coulter területileg illetékes képviselőjével.

A CSOMAG TARTALMA

A nátrium-azid tartósítószer robbanékony vegyületeket képezhet a fém lefolyócsövekben. Lásd az alábbi NIOSH-közleményt: Explosive Hazard (Robbanékony azidotokkal kapcsolatos veszélyek) (76. 8. 16.).

Az azidvegyületek esetleges felhalmozódásának elkerülése érdekében a hígítatlan reagens szennyvízlefolyóba történő kiöntése után a szennyvízvezetéket vízzel át kell öblíteni. A nátrium-azid ártalmatlanítását a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell végezni.

SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETTEL NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK:

- Mintacsövek és a mintavételhez használt anyagok.
- Automata pipetták eldobható hegyekkel 10, 100 és 500 µL-hez.
- Műanyag hemolíziscsövek.
- Az optimális eredmények elérése érdekében a következő reagensek egyikének használata ajánlott (kövesse a vonatkozó specifikus folyamatokat). IntraPrep Fixation/Permeabilization (fixáló/permeabilizáló) reagens (Ref A07802 vagy A07803). PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit), az intra- és extracelluláris festő préparátumhoz (Ref B31167 vagy B31168).
- Leukocitafixáló reagens. Például: IOTest 3 fixálóoldat (Ref. A07800).
- Izotípus-kontroll APC: IOTest reagens (Ref. IM2475).
- Puffer (PBS: 0,01 M nátrium-foszfát; 0,145 M nátrium-klorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automata keverő (vortex típusú).
- Áramlási citométer.

ELJÁRÁS PERFIX-NC REAGENS ESETÉN

Az alábbiakban a PerFix-nc készlettel (centrifuga nélküli vizsgálati készlet) használatos javasolt eljárás olvasható intra- és extracelluláris festési előkészítéshez (Ref B31167 vagy B31168).

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. IM2475).

SZETT REAGENS ELKÉSZÍTÉSE

PerFix-nc puffer 1 és 2 reagensek

Előkészítés nem szükséges. Mindkét reagens közvetlenül a csőből használható.

PerFix-nc 3-as puffer reagens előkészítés

Készítse el helyben a Final 1X reagenst.

Hígítsa ionmentes vízben a 10X koncentrátumú PerFix-nc puffer 3-t (Final 10X oldat): 1 egység puffer 3, 9 egység vízzel. Használat előtt alaposan keverje el. Javasoljuk, hogy csak a napi kísérlethez elegendő mennyiségű Final 1X reagenst készítse el egyszerre.

1. A megfelelően felcímkézett csövek aljára pipettával cseppentse 50 µL vér mintát. Igyekezzen elkerülni, hogy a vér a cső oldalára cseppenjen; különben nem lesz megfelelő a kezelés.
2. Pipettázzon 5 or 25 µL fixáló reagenst az egyes mintacsövekbe attól függően, hogy alacsony vagy magas koncentrációjú fixálásra van szükség (az alacsony/magas koncentrációjú fixáló protokoll részleteit lásd a PerFix-nc használati utasítását).
3. Azonnal keverje meg Vortexszel és inkubálja 15 percig szabahőmérsékleten (18 – 25 °C).
4. Ismét vortexelje a fixált vérét és adjon hozzá 300 µL permeabilizáló reagenst minden csőbe; azonnal vortexelje.

- Add immediately to each tube 10 µL of the fluorochrome-conjugated antibodies against intracellular epitopes and surface molecules (alternatively, the antibodies can be pre-mixed into the Permeabilizing Reagent and added altogether at the end of the fixation step).
- Azonnal vortexelje és inkubálja 15 - 30 percig szobahőmérsékleten.
- Adjon hozzá 3 mL-t a Final 1X reagensből (melyet a Final 10X koncentrált oldatból készített el) minden csőhöz; a minta készen áll az áramlási citometria elemzésére.

MEGJEGYZÉS: A preparátumokat a citometrikus elemzés előtt 24 óráig lehet tárolni, ajánlott 2-8 °C-on, fénytől védett helyen tárolni őket.

ELJÁRÁS INTRAPREP REAGENS ESETÉN

Alább olvasható a javasolt folyamat IntraPrep fixáló/permeabilizáló reagenssel (Ref. A07802 vagy A07803).

Mindegyik analizált minta esetében a vizsgált mintacsövön kívül a vizsgálatot ki lehet egészíteni egy kontrollmintacsővel is, amelyben a sejtek az izotípus-kontroll jelenlétében vannak összekeverve (Ref. IM2475).

A vérminta esetén az optimális festés 3 és 10 x 10³ sejt / µL. Ha a leukociták koncentrációja nagyobb mint 10 x 10³ sejt / µL, hígítás szükséges (11).

- Adj 50 µL EDTA-ba gyűjtött vérét az egyes mintacsövekhez.
- Minden csőhöz adjon 100 µL IntraPrep reagens 1-et (fixáló).
- 3–5 másodpercig erőteljesen vortexelje a csöveget.
- Inkubálja 15 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
- Tegyen mindegyik kémcsőbe 4 mL PBS reagenst.
- Centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 300 x g-vel. Felszívás segítségével távolítsa el a felülúszót.
- Adj minden egyes csőhöz 100 µL IntraPrep 2. reagenst (permeabilizálás). Hagya diffúzióval összekeveredni. TILOS VORTEX KEVERŐT HASZNÁLNÍ!
- Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten, nem felfázva.
- Gondosan, kézzel rázza a csöveget 2–3 másodpercig.
- Adj minden mintacsőhöz 10 µL specifikus IOTest konjugált antitestet, és szükség esetén mindegyik kontrollmintacsőhöz 10 µL izotípuskontrollt.
- Inkubálja 15–20 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C), fénytől védett helyen.
- Adj minden mintacsőhöz 4 mL PBS-t és centrifugálja 5 percig szobahőmérsékleten, 300 x g-vel.
- Felszívással távolítsa el a felülúszót, és rezuszpendedja a sejteket 0,5–1 mL, használatra szolgáló (1-szeres) koncentrációjú IOTest 3 Fixálóoldattal (referenciaszám: A07800).
- A készítmények készen állnak a citometriás elemzésre.

MEGJEGYZÉS: Amennyiben a mintákat a citometriás vizsgálat előtt több mint két órán keresztül tároljuk, tanácsos őket 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten, fénytől védve elhelyezni. Az így tárolt preparátumokat is legkésőbb 24 órán belül fel kell használni!

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A laboratóriumainkban látszólag egészséges 25 donorok teljesvér-mintáit kezeltük a fent ismertetett reagenssel. Az ezzel a reagenssel kapott vizsgált pozitív események számolási eredményeit az alábbi táblázat tartalmazza:

PerFix-nc lizáló rendszer:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep lizáló rendszer:

Pozitív cél	Szám	Átlag (%)	SD	CV (%)
Limfociták	25	10,02	4,03	40,19

Ezek az értékek csak tájékoztatásul szolgálnak. Az egyes laboratóriumoknak meg kell határozniuk a saját várt értékeiket a helyi egészséges donorok populációjából.

TELJESÍTMÉNY

A teljesítményadatokat a fent leírt eljárás segítségével lehet megkapni az alvadásgátlóként EDTA-sót tartalmazó steril csövekbe levett vérmintákból a vérvételt követő kevesebb mint 24 órán belül. Az analizist az immunfestést követő 2 órán belül kell elvégezni.

SPECIFICITÁS

A CD79a molekula a CD79a / CD79b diszulfid-kapcsolt heterodimer része, amely nemkovárens kötéssel kapcsolódva a felszíni immunglobulinokhoz, azokkal B-sejt receptorokat (BCR) képez (12). A CD79b molekula expressziója a B-sejt fejlődés korai szakaszában megjelenik, lokalizációja a pro-B szakaszban citoplazmikus. A későbbiekben a CD79a a B-sejt receptor részét képezi. Membránexpressziója a plazmocita állapotig fennáll, amelyben azután lokalizációja újra citoplazmikussá válik (13).

A HM47 monoklonális antitest (mAb) a CD79a molekula egy intracitoplazmatikus epitópjával lép reakcióba (13). A HM47-et az ötödik HLDA (Human Leucocyte Differentiation Antigens) Workshop (1993, Boston, USA, WS-kód: cB017, B szekció) alkalmával rendelték a CD79a kimutatására (13).

PRECIZITÁS

A százalékos pozitív értékeket teljes vér felhasználásával határozták meg. Mindegyik mintát 4-szer futtatták, naponta kétszer 1 napig, 2 berendezésben, a CD79a-APC monoklonális antitest reagensek 2 gyártási tételenek felhasználásával. A mérésekkel (pozitív %) Navios áramlási citométerrel végezték. Az analizist a CLSI által közzétett EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (A kvantitatív mérési módszerek precizitási teljesítményének értékelése) módszer alapján végezték.

Az elfogadhatósági kritériumaink az egyes populációknál mért pozitív események számától függ:

- Ha a pozitív esemény < 1500, CV < 15%
- Ha a pozitív esemény > 1500, CV < 10%

PerFix-nc lizáló rendszer:

Límzfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 1026							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételek belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep lizáló rendszer:

Límzfociták							
Pozitív események száma (átlag) = 880							
	Felhasználók közötti	Citométerek közötti	Egy gyártási tételek belüli	Eltérő gyártási tételek közötti	Futtatások közötti	Egy futtatáson belüli	Összes
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
EREDMÉNYEK	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PONTOSSÁG

A CD79a-APC pontosságának értékeléséhez összevetették egy referencia reagens és a Navios áramlási citométeren futtattott teljesvér-minták eredményeit. A teszt- és a referenciareagens közötti torzítást a teszteredmények közötti különbségek alapján határozták meg. Ha a torzítás a megengedhető hibatartományon belül maradt, vagy ha a p-érték nem jelzett szignifikáns különbséget ($> 0,05$), akkor a két reagenssel kapott teszteredményeket egyenértékűnek tekintették.

Az eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

PerFix-nc lizáló rendszer:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Límzfociták	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep lizáló rendszer:

Donorok száma = 25				
Pozitív cél	Átlag Δ	Δ % sejt kritériumok	p-érték	EREDMÉNYEK
Límzfociták	0,09	<3	0,659	PASS

VAK HATÁRÉRTÉK ÉS KIMUTATHATÓSÁGI HATÁRÉRTÉK

Vizsgálatot végeztek a CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (A klinikai laboratóriumi mérési eljárások kimutatási képességének értékelése) útmutatónak megfelelően. Kimutathatósági határérték (LOD) – a vizsgált anyag következetesen kimutatható legalacsonyabb koncentrációja. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza:

PerFix-nc lizáló rendszer:

Positive Target	Vak határérték (sejt/ μ L)	Kimutathatósági határérték (sejt/ μ L)
Límzfociták	0	4

IntraPrep lizáló rendszer:

Positive Target	Vak határérték (sejt/ μ L)	Kimutathatósági határérték (sejt/ μ L)
Límzfociták	1	2

KORLÁTOZÁSOK

1. Az áramlási citometria hamis eredményeket adhat, ha a citométert nem igazítják tökéletesen, ha nem kompenzálják megfelelően a fluorescenciaszivárgást és ha a régiókat nem pozicionálják elég gondosan.
2. Pontos és megismételhető eredmények születnek, amennyiben az eljárásokat a műszaki tájékoztató szerint és a helyes laboratóriumi gyakorlattal összhangban végzik el.
3. A reagens konjugált antitestjét úgy kalibrálták, hogy a legjobb specifikus jel/nem specifikus jel arányt produkálja. Ezért fontos, hogy minden tesztnél betartsa a reagenstérfogat/mintatérfogat arányt.
4. Emelkedett leukocitaszám esetén hígítsa a vér annyi PBS hozzáadásával, hogy a fehérvérszervek koncentrációja körülbelül 5×10^9 leukocita/L legyen (11).
5. Bizonyos betegségek, például súlyos veseelégtelenség vagy hemoglobinopatiák esetében előfordulhat, hogy a vörösvértestek lízise lassú, részleges, vagy akár lehetetlen. Ilyenkor javasolt a festés előtt a mononukleáris sejtek elkülönítése egy sűrűséggradiens alapján működő eljárással (ilyen például a Ficoll) (14).
6. A humán antigén elleni monoklonális antitest terápiában részesülő betegek esetében a specifikus célantigén kimutatásának mértéke csökkenhet vagy sikertelen lehet az alkalmazott terápiás antitest által okozott részleges vagy teljes gátlás miatt.

7. Az CD79a-APC eredményeket a beteg teljes klinikai képének fényében kell értelmezni, figyelembe véve a tüneteket, a kórtörténetet, más tesztek eredményeit és egyéb releváns adatokat.

A példákért és az irodalomjegyzékért lásd a Függeléket.

VÉDJEGYEK

A Beckman Coulter, a stilizált logó, valamint az itt említett Beckman Coulter termék- és szolgáltatásjegyek a Beckman Coulter, Inc. védjegyei vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és más országokban.

TOVÁBBI INFORMÁCIÓK

Az Európai Unióban, illetve az EU-val azonos szabályozási rendszerrel (lásd: az EU 2017/746 rendelete az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökről) rendelkező országokban élő beteg/felhasználó/harmadik fél esetében: ha a jelen eszköz használata során vagy használata eredményeként súlyos váratlan esemény történik, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy hivatalos területi képviselejének, valamint az illetékes nemzeti hatóságnak.

A Summary of Safety and Performance (A biztonság és a teljesítmény összefoglalása) című dokumentum elérhető az EUDAMED adatbázisban: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ÁTDOLGOZÁSOK

AC ÁTDOLGOZÁS:	Kiadás dátuma: 2019. október
ÁTDOLGOZÁS	Közzététel dátuma
AW	2022. február
A Beckman Coulter globális címkézési szabályzatának megfelelő, valamint az IVD-R (EU) 2017/746 követelmények szerinti frissítések:	
Hozzáadott szakaszok	BSI 2797 szám, Célfelhasználó, Klinikai jelentőség, Koncentráció, Precizitás, Pontosság, Vak határérték és kimutathatósági határérték, További információk, Átdolgozások.
Új információk	Lásd a Korlátozások című részeket
Megfogalmazási vagy tipográfiai frissítések	Lásd az Eljárást, Teljesítmény, Korlátozások, Figyelmeztetések és óvintézkedések, Tárolás és stabilitás című részeket.
Eltávolított szakaszok	Példa klinikai alkalmazásra, Reagensek, Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság, Linearitás
Frissített szakaszok	Rendeltetésszerű használat, GHS szerinti veszélyességi besorolás, A minőségromlás jelei, Eljárás, Függelék.
ÁTDOLGOZÁS	Közzététel dátuma
AX	
Frissített szakaszok	Kazak nyelv hozzáadása
Frissített szakaszok	Tárolás és stabilitás

Szimbólumok listája

A szimbólumok jegyzéke elérhető a következő weboldalon: beckman.com/techdocs (dokumentumszám: B60062)

	Specyfikacje
Swoistość	CD79a
Klon	HM47
Hybrydoma	NS1 x balb/c
Immunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobulina	IgG1
Gatunek	Mysz
Oczyszczanie	Chromatografia powinowactwa
Fluorochrom	Allophycocyanin (APC)
Stosunek molowy	APC / Ig: 0,5 - 1,5
Wzbudzenie λ	633/638 nm
Pik emisji	660 nm
Bufor	PBS o pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA i 0,1% NaN ₃

IOTest

Przeciwciało skoniugowane

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testów; 1 mL, 10 µL / test

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

PRZEZNACZENIE

To przeciwciało skoniugowane z fluorochromem umożliwia jakościową i niezautomatyzowaną identyfikację populacji komórek wykazujących ekspresję antygenu CD79a obecnego w ludzkich próbkach biologicznych metodą cytometrii przepływowej (zobacz część „Próbki” poniżej).

ZASADA DZIAŁANIA

Ten test jest oparty na zdolności swoistych przeciwciał monoklonalnych do wiązania się z determinantami antygenowymi ekspresjonowanymi przez leukocyty.

Przepuszczalność indukowana jest w błonach cytoplazmatycznych leukocytów w celu wykazania obecności wewnętrzko-mórkowych determinant antygenowych za pomocą fluorescencyjnych przeciwciał monoklonalnych. Leukocyty są następnie analizowane metodą cytometrii przepływowej.

Cytometr przepływowy mierzy rozpraszanie światła i fluorescencję komórek. Umożliwia to odgraniczenie populacji zainteresowania w elektronicznym oknie zdefiniowanym na histogramie, który koreluje ortogonalne rozpraszanie światła (rozpraszanie boczne — Side Scatter, w skrócie SS) i rozpraszanie światła pod wąskim kątem (rozpraszanie do przodu, Forward Scatter, w skrócie FS). Na etapie bramkowania, w zależności od zastosowania wybranego przez użytkownika, można używać innych histogramów łączących dwa z różnych parametrów dostępnych w cytometrze.

Fluorescencja odgraniczonych komórek jest analizowana w celu odróżnienia zdarzeń barwionych dodatnio od zdarzeń nieulegających barwieniu. Wyniki są wyróżniane jako odsetek zdarzeń dodatkowych względem wszystkich zdarzeń zarejestrowanych poprzez bramkowanie.

UŻYTKOWNIK DOCELOWY

Produkt jest przeznaczony do profesjonalnego użytku w laboratoriach.

ZNACZENIE KLINICZNE

CD79a-APC to przeciwciało CD79a służące do identyfikowania i charakteryzowania komórek wykazujących ekspresję antygenu CD79a za pomocą cytometrii przepływowej. Ten produkt nie może samodzielnie generować i nie jest przeznaczony do generowania jakichkolwiek wniosków diagnostycznych.

W połączeniu z innymi markerami produkt ten może służyć do jednego lub kilku z następujących zastosowań:

- Do wspomagania diagnostyki różnicowej pacjentów z nieprawidłowym obrazem hematologicznym i podejrzeniem nowotworu układu krwiotwórczego oraz do monitorowania pacjentów ze stwierdzonym nowotworem układu krwiotwórczego.

Zobacz poniższe piśmiennictwo:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PRÓBKI

Krew żylną należy pobierać do sterylnych probówek zawierających antykoagulant w postaci soli EDTA.

Próbki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25°C), bez wytrząsania. Przed pobraniem próbki do testu należy uzyskać jednorodną mieszankę poprzez delikatne mieszanie.

Próbki muszą zostać zbadane w ciągu 24 godzin od pobrania krwi żylnej przez nakłucie.

STĘŻENIE

Zobacz świadectwo analizy właściwe dla serii pod adresem www.beckman.com.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
2. Nie zamrażać.
3. Przed użyciem odczekać, aż osiągnie temperaturę pokojową (18–25°C).
4. Maksymalnie ograniczyć narażenie na działanie światła.
5. Nie dopuścić do skażenia mikrobiologicznego odczynników, gdyż może to spowodować uzyskanie fałszywych wyników.
6. Z roztworami przeciwciał zawierającymi azydek sodu (NaN₃) należy postępować ostrożnie. Nie spożywać i nie dopuszczać do kontaktu ze skórą, błoną śluzową oraz oczami.

Ponadto w środowisku kwaśnym azydek sodu może tworzyć potencjalnie niebezpieczny kwas azotowodorowy. W przypadku konieczności usunięcia zalecane jest rozcieńczenie odczynnika w dużej objętości wody przed właniem go do kanalizacji, aby uniknąć gromadzenia się azydu sodu w metalowych rurach i uniknąć ryzyka wybuchu.

7. Wszystkie próbki krwi należy uważać za potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi ostrożnie (w szczególności nosić ochronne rękawice, fartuchy i okulary).
8. Nigdy nie wolno pipetować ustami. Nie dopuszczać do kontaktu próbek ze skórą, błonami śluzowymi i oczami.
9. Probówki przeznaczone na krew i materiały jednorazowego użytku używane podczas procedury należy usuwać do pojemników ad hoc przeznaczonych do spalenia.
10. Odczynniki i odpady należy usuwać zgodnie z wymogami lokalnymi.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Produkt nie został sklasyfikowany jako niebezpieczny



Karta charakterystyki jest dostępna pod adresem beckman.com/techdocs

MAGAZYNOWANIE I STABILNOŚĆ

Ten odczynnik musi być przechowywany w temperaturze 2–8°C z zapewnieniem ochrony przed światłem, zarówno przed otwarciem fiolki jak i po jej otwarciu.

W oparciu o wyniki badania stabilności dopuszczalny okres przechowywania w zamkniętej fiołce ustalono na: 730 dni.

Stabilność otwartej fiolki: odczynnik zachowuje stabilność przez 180 dni.

OZNAKA POGORSZENIA WŁAŚCIWOŚCI

Wszelkie zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników mogą wskazywać na pogorszenie właściwości — odczynników takich nie należy używać.

W celu otrzymania dodatkowych informacji lub w przypadku otrzymania uszkodzonego produktu należy skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Beckman Coulter pod numerem telefonu 800-742-2345 (USA lub Kanada) lub z miejscowym przedstawicielem firmy Beckman Coulter.

ZAWARTOŚĆ

Środek konserwujący, azydek sodu, może tworzyć związki wybuchowe w metalowych rurach kanalizacyjnych. Patrz NIOSH Bulletin (Biuletyn instytutu NIOSH): Explosive Azide Hazard (Niebezpieczeństwo wybuchu azydu) (16.8.76).

Po usunięciu nierożcieńczonego odczynnika należy przepłukać rury ściekowe wodą, aby uniknąć gromadzenia się azyków. Azydek sodu musi być usuwany zgodnie z odpowiednimi przepisami lokalnymi.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE Z ZESTAWEM:

- Probówki do pobierania próbek i materiały wymagane do pobierania próbek.
- Pipety automatyczne z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 500 µL.
- Probówki z tworzywa sztucznego przeznaczone do hemolizy.
- W celu uzyskania optymalnych wyników zaleca się następujące odczynniki (należy przestrzegać właściwej procedury):
IntraPrep Fixation/Permeabilization reagent (nr kat. A07802 lub A07803)
PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit) dla Intra- & Extra-Cellular Staining Preparation (nr kat. B31167 lub B31168)
- Odczynnik do utrwalania limfocytów. Przykład: Roztwór utrwalający IOTest 3 (nr ref. A07800).
- Kontrola izotypowa APC: Odczynnik IOTest (nr ref. IM2475).
- Bufor (PBS: 0,01 M fosforan sodu; 0,145 M chlorek sodu; pH 7,2).
- Wirówka.
- Mieszadło automatyczne (typu worteks).
- Cytometr przepływowaty.

PROCEDURA W PRZYPADKU ODCZYNNIKA PERFIX-NC

Poniżej przedstawiono zalecaną procedurę stosowaną w przypadku zestawu PerFix-nc (zestaw do oznaczenia bez wirowania) na potrzeby przygotowania do barwienia wewnętrz- i zewnętrzkomórkowego (nr ref. B31167 lub B31168).

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz próbki testowej, można dodać jedną próbówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. IM2475).

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKA

Bufor PerFix-nc Buffer 1 i 2 odczynniki

Nie jest wymagane odtwarzanie. Oba odczynniki mogą być stosowane bezpośrednio z fiolki.

Przygotowanie odczynnika PerFix-nc Buffer 3

Odczynnik Final 1X Reagent należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

Stężony 10X PerFix-nc Buffer 3 (Final 10X Solution) rozcieńczyć w wodzie dejonizowanej: 1 część Buffer 3 z 9 częściami wody. Wymieszać dokładnie przed użyciem. Zalecamy przygotowanie Final 1X Reagent w objętości niezbędnej dla doświadczeń wykonywanych w danym dniu.

1. Odpipetować 50 µL próbki krwi na dno każdej, odpowiednio oznakowanej, próbówki. Unikać umieszczania krwi na bocznej ścianie próbówki. W przeciwnym wypadku reakcja nie zajdzie we właściwy sposób.
2. Do każdej próbówki odpipetować 5 or 25 µL odczynnika utrwalającego, w zależności od tego, czy wymagane jest słabe czy mocne utrwalenie (szczegółowe informacje dotyczące protokołu słabego/mocnego utrwalania zamieszczone w instrukcji użycia PerFix-nc).
3. Natychmiast wymieszaj mieszadłem wirowym i inkubuj 15 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C).

4. Ponownie wymieszać (worek) utrwaloną krew i dodać do każdej próbówki 300 µL Permeabilizing Reagent, niezwłocznie wymieszać.
5. Do każdej próbówki dodać niezwłocznie 10 µL przeciwciał skoniugowanych z fluorochromem skierowanych przeciwko epitopom wewnętrzkomórkowym i cząsteczkom powierzchniowym (opcjonalnie przeciwciała można wymieszać wstępnie z Permeabilizing Reagent, a następnie dodać pod koniec etapu utrwalania).
6. Niezwłocznie wymieszać (worek) i inkubować przez 15 - 30 minut w temperaturze pokojowej.
7. Do każdej próbówki dodać 3 mL Final 1X Reagent (przygotowanego z Final Solution stężonego 10X), niezwłocznie wymieszać (worek); próbka jest teraz gotowa do analizy za pomocą cytometru przepływowego.

UWAGA: jeśli przed analizą preparaty mają być przechowywane dłużej niż 24 godziny, zaleca się przechowywać je w temperaturze 2-8°C i chronić przed dostępem światła.

PROCEDURA Z ODCZYNNIKIEM INTRAPREP

Poniżej opisano zalecaną procedurę dla odczynnika IntraPrep Fixation/Permeabilization reagent (nr kat. A07802 lub A07803).

Do każdej badanej próbki, dodatkowo oprócz próbki testowej, można dodać jedną próbówkę kontrolną, w której komórki są mieszane w obecności kontroli izotypowej (nr ref. IM2475).

W przypadku próbki krwi optymalne barwienie uzyskiwane jest dla leukocytów w ilości od 3 do 10×10^3 komórek/µL. Jeśli stężenie leukocytów jest wyższe niż 10×10^3 komórek/µL, należy przeprowadzić rozcieranie (11).

1. Do każdej próbówki dodać 50 µL krwi pobranej do EDTA.
2. Do każdej próbówki dodać 100 µL odczynnika IntraPrep 1 (utrwalanie).
3. Energicznie woreksować próbówki przez 3–5 sekund.
4. Inkubować przez 15 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
5. Dodać po 4 mL PBS do każdej próbówki.
6. Wirować przez 5 minut przy 300 x g w temperaturze pokojowej. Usunąć supernatant poprzez zasysanie.
7. Do każdej próbówki dodać po 100 µL odczynnika IntraPrep 2 (odczynnik permeabilizujący). Pozostawić do wymieszania poprzez dyfuzję. NIE WORTEKSOWAĆ.
8. Inkubować przez 5 minut w temperaturze pokojowej bez wytrząsania.
9. Ostrożnie wytrząsać próbówki ręcznie przez 2–3 sekundy.
10. Dodać po 10 µL swoistego przeciwciała skoniugowanego IOTest do każdej próbki testowej i, w razie potrzeby, po 10 µL kontroli izotypowej do każdej próbki kontrolnej.
11. Inkubować przez 15–20 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C), chroniąc przed światłem.
12. Dodać 4 mL PBS i wirować przy 300 x g przez 5 minut w temperaturze pokojowej.
13. Usunąć nadając poprzez zasysanie i ponownie zawiesić peletkę komórek w 0,5–1 mL roztworu utrwalającego IOTest 3 (nr ref. A07800) w jego stężeniu roboczym (1X).
14. Preparaty są gotowe do badania cytometrycznego.

UWAGA: jeśli przed analizą preparaty mają być przechowywane dłużej niż 2 godziny, zaleca się przechowywać je w temperaturze 2-8°C i chronić przed dostępem światła. Preparaty można przechowywać nie dłużej niż przez 24 godziny.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W naszych laboratoriach próbki krwi pełnej od 25 dawców niewykazujących objawów chorobowych poddano obróbce z użyciem opisanego powyżej odczynnika. Uzyskane wyniki w zakresie liczby dodatkowych zdarzeń zainteresowania w przypadku tego odczynnika podano w tabeli poniżej:

System lizujący PerFix-nc:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	10,98	4,13	37,60

System lizujący IntraPrep:

Dodatnie docelowe komórki	Liczba	Średnia (%)	SD	WZ (%)
Limfocyty	25	10,02	4,03	40,19

Wartości te są przeznaczone wyłącznie do celów poglądowych. Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości oczekiwane z użyciem próbek reprezentatywnych dla lokalnej populacji zdrowych dawców.

WYDAJNOŚĆ

Dane dotyczące wydajności uzyskano z wykorzystaniem procedury opisanej powyżej na próbках krwi mających mniej niż 24 godziny, uprzednio pobranych do sterylnych próbówek z solą EDTA jako antykoagulantem. Badanie przeprowadzono w ciągu 2 godzin po barwieniu immunologicznym.

SWOISTOŚĆ

Cząsteczka CD79a jest częścią połączonego dwusiarczkiem heterodimeru CD79a / CD79b, który tworzy wiązania niekowalencyjne z immunoglobulinami powierzchniowymi, tworząc receptory na komórkach B (BCR) (12). Do ekspresji cząsteczek CD79a dochodzi we wczesnych etapach ontogenezy komórek B i w związku z tym jej umiejscowienie w fazie pro-B jest cytoplazmatyczne. Później CD79a staje się częścią receptora BCR. Jej ekspresja błonowa trwa aż do etapu plazmocytycznego, w którym ta cząsteczka ponownie znajduje się w cytoplazmie (13).

MAb HM47 reaguje z wewnętrzcytoplazmatycznym epitopem cząsteczek CD79a (13). Cząsteczka ta została przypisana do CD79a podczas konferencji 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. międzynarodowe warsztaty dotyczące抗原ów różnicujących ludzkie leukocyty), w Bostonie, USA, w 1993 roku (kod WS: cB017, sekcja B) (13).

PRECYZJA

Odsetek wartości dodatnich określono przy użyciu krwi pełnej. Każda próbka oznaczano 4 razy, dwa razy na dobę przez 1 dzień na 2 analizatorach przy użyciu 2 serii odczynnika przeciwcała monoklonalnego CD79a-APC. Pomiary (% dodatnich) przeprowadzono na cytometrze przepływowym Navios. Badanie przeprowadzono na podstawie metody opisanej w wytycznych CLSI w dokumencie EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Ocena wydajności precyzji metody pomiarów ilościowych).

Nasze kryteria akceptacji są uzależnione od liczby zdarzeń dodatnich zmierzonych w każdej populacji:

- Jeśli zdarzenie dodatnie < 1500, WZ < 15%
- Jeśli zdarzenie dodatnie > 1500, WZ < 10%

System lizujący PerFix-nc:

Linfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 1026							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

System lizujący IntraPrep:

Linfocyty							
Liczba zdarzeń dodatnich (średnia) = 880							
	Między operatorami	Między cytometrami	W ramach serii	Między seriami	Między oznaczeniami	W ramach analizy	Łącznie
WZ (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
WYNIKI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOKŁADNOŚĆ

Dokładność odczynnika CD79a-APC oceniano poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego odczynnika z wynikami uzyskanymi za pomocą odczynnika referencyjnego, wykorzystywanego jako odniesienie, na zestawie próbek krwi pełnej oznaczanych na cytometrze przepływowym Navios. Odchylenie między odczynnikiem testowym i referencyjnym określono na podstawie różnicy między wynikami testu. Jeśli odchylenie mieści się w dopuszczalnym zakresie błędu lub wartość p wskazuje na brak istotnej różnicy ($> 0,05$), wyniki testu dla dwóch odczynników są uznawane za równoważne.

W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

System lizujący PerFix-nc:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Linfocyty	0,32	<3	0,005	PASS

System lizujący IntraPrep:

Liczba dawców = 25				
Dodatnie docelowe komórki	Średnia Δ	Kryteria Δ % komórki	Wartość p	WYNIKI
Linfocyty	0,09	<3	0,659	PASS

GRANICA PRÓBY ŚLEPEJ I GRANICA WYKRYWALNOŚCI

Przeprowadzono badanie zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zdolności wykrywania dla procedur pomiarowych w laboratoriach medycznych). Granica wykrywalności (LOD) to najniższe stężenie analitu, które może być powtarzalnie wykrywane. W poniższej tabeli przedstawiono podsumowanie uzyskanych wyników:

System lizujący PerFix-nc:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/ μ L)	Granica wykrywalności (l. komórek/ μ L)
Linfocyty	0	4

System lizujący IntraPrep:

Positive Target	Granica próby ślepej (l. komórek/ μ L)	Granica wykrywalności (l. komórek/ μ L)
Linfocyty	1	2

ORGANICZENIA

- Wyniki cytometrii przepływowej mogą być zafalszowane, jeśli osiowanie cytometru nie było dokładne, przepuszczona fluorescencja nie została prawidłowo skompensowana, a regiony nie zostały starannie upozycjonowane.
- Uzyskane wyniki będą dokładne i odtwarzalne pod warunkiem, że stosowane będą procedury zgodne z informacjami zawartymi w ulotce z danymi technicznymi oraz z dobrymi praktykami laboratoryjnymi.
- Skoniugowane przeciwcała zawarte w tym odczynniku zostało skalibrowane tak, aby zapewniać najlepszy stosunek sygnału swoistego do nieswoistego. Dlatego ważne jest przestrzeganie stosunku objętości odczynnika do objętości próbki w każdym teście.
- W przypadku hiperleukocytozy należy rozcieńczyć krew w PBS, aby uzyskać wartość w przybliżeniu 5×10^9 leukocytów/L (11).

5. W niektórych stanach chorobowych, takich jak ciężka niewydolność nerek lub hemoglobinopatie, liza krvinek czerwonych może być powolna, niepełna lub nawet niemożliwa. W takich przypadkach przed barwieniem zalecane jest wyizolowanie komórek jednojądrzastych na gradiencie gęstości (na przykład Ficoll) (14).
6. U pacjentów poddawanych terapii anty-ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, wykrywanie swoistych antygenów docelowych może być osłabione lub niemożliwe z powodu częściowego lub całkowitego zablokowania przez przeciwciało terapeutyczne.
7. Wyniki oznaczenia CD79a-APC należy interpretować w świetle ogólnego obrazu klinicznego pacjenta, w tym objawów, historii klinicznej, danych z dodatkowych testów oraz innych właściwych informacji.

Przykłady i piśmiennictwo można znaleźć w załączniku.

ZNAKI TOWAROWE

Beckman Coulter, stylizowane logo oraz wymienione w tym dokumencie znaki produktów i usług firmy Beckman Coulter są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Beckman Coulter, Inc. w Stanach Zjednoczonych i innych krajach.

DODATKOWE INFORMACJE

Dotyczy pacjentów/użytkowników/stron trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (rozporządzenie 2017/746/UE w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro) — jeśli podczas lub w wyniku korzystania z tego wyrobu wystąpi poważny incydent, należy zgłosić go producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz odpowiedniemu organowi krajowemu.

Dokument The Summary of Safety and Performance (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i działania) jest dostępne w bazie danych EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIA ZMIAN

WERSJA AC:	Data wydania: październik 2019 r.
WERSJA	Data wydania
AW	
Aktualizacje w celu zapewnienia zgodności z globalnymi zasadami oznakowania firmy Beckman Coulter i według wymogów rozporządzenia IVD-R (UE)2017/746:	Luty 2022 r.
Dodano części	Numer BSI 2797, Użytkownik docelowy, Znaczenie kliniczne, Stężenie, Precyza, Dokładność, Granica próby ślepej i granica wykrywalności, Informacje dodatkowe, Historia zmian.
Dodano informacje	Zobacz części Ograniczenia
Aktualizacje wyrażeń lub typograficzne	Zobacz części Procedura, Wydajność, Ograniczenia, Ostrzeżenia i środki ostrożności, Magazynowanie i stabilność.
Usunięte części	Przykłady zastosowań klinicznych, Odczynniki, Odtwarzalność wewnętrzlaboratoryjna, Liniowość
Zaktualizowane części	Przeznaczenie, Klasyfikacja zagrożeń wg GHS, Dowód pogorszenia jakości, Procedura, Załącznik.
WERSJA	Data wydania
AX	
Zaktualizowane części	Dodano język kazachski
Zaktualizowane części	Przechowywanie i stabilność

Legenda symboli

Słowniczek symboli jest dostępny pod adresem beckman.com/techdocs (numer dokumentu B60062)

	Specifikace
Specificita	CD79a
Klon	HM47
Hybridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulin	IgG1
Druhy	Myš
Purifikace	Afinitní chromatografie
Fluorochrom	Allophycocyanin (APC)
Molární poměr	APC/Ig: 0,5 - 1,5
Excitace λ	633/638 nm
Emisní vrchol	660 nm
Pufr	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugovaná protilátka

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testů; 1 ml, 10 µl / test

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka konjugovaná s fluorochromem umožňuje kvalitativní a neautomatizovanou identifikaci buněčných populací exprimujících antigen CD79a v lidských biologických vzorcích (viz část „Vzorky“ níže) pomocí průtokové cytometrie.

PRINCIP

Tento test je založen na schopnosti monoklonálních protilátek specificky se vázat na antigenní determinanty exprimované na leukocytech.

Permeabilita je v cytoplazmatické membráně leukocytů navozena kvůli zviditelnění intracelulárních antigenních determinant pomocí monoklonálních fluorescenčních protilátek. Leukocyty jsou poté analyzovány průtokovou cytometrií.

Průtokový cytometr měří difúzi světla a fluorescenci buněk. Umožňuje oddělit zkoumanou populaci v rámci elektronického okna definovaného na histogramu, který je v korelací s ortogonální difúzí světla (kolmý rozptyl) a s difúzí světla v úzkém úhlu (přímý rozptyl). Jako podporu ve fázi gatování lze, v závislosti na aplikaci zvolené uživatelem, použít další histogramy s kombinací dvou různých parametrů, které jsou v cytometru k dispozici.

Fluorescence oddělených buněk je analyzována s cílem odlišit pozitivně obarvené události od neobarvených. Výsledky jsou vyjádřeny jako procentní podíl pozitivních událostí ze všech událostí zjištěných gatováním.

ZAMÝŠLENÝ UŽIVATEL

Tento produkt je určen pro profesionální laboratorní použití.

KLINICKÁ VÝZNAMNOST

CD79a-APC je protilátka CD79a používaná k identifikaci a charakterizaci buněk exprimujících antigen CD79a pomocí průtokové cytometrie. Tento produkt sám o sobě nevytváří a nemá vytvářet žádný diagnostický závěr.

Při použití v kombinaci s dalšími markery lze tento produkt použít k jedné nebo více z následujících funkcí:

- Jako pomůcka pro diferenciální diagnostiku pacientů s hematologickými abnormalitami, u kterých je podezření na hematopoetickou neoplazii, a k monitorování pacientů se známou hematopoetickou neoplazí.

Viz následující odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilní krve musejí být odebrány do sterilních zkumavek obsahujících sůl EDTA jako antikoagulační činidlo.

Vzorky by měly být uchovávány při laboratorní teplotě (18–25 °C) a neměly by se protřepávat. Vzorek by měl být před odebráním vzorku k testování homogenizován mírným promícháním.

Vzorky je nutné analyzovat do 24 hodin od venepunkce.

KONCENTRACE

Viz certifikát o analýze specifický pro šarži na www.beckman.com.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Reagencii nepoužívejte po datu expirace.
- Nezmrazujte.
- Před použitím nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18–25 °C).
- Minimalizujte expozici světlu.
- Zabraňte mikrobiologické kontaminaci reagencí, jinak mohou být výsledky chybné.
- S roztoky protilátek obsahujícími azid sodný (NaN₃) je třeba manipulovat opatrně. Neužívejte vnitřně a zabraňte veškerému kontaktu s pokožkou, sliznicemi a očima.

V kyselém prostředí může azid sodný navíc vytvářet potenciálně nebezpečnou kyselinu azidovodíkovou. Při likvidaci se doporučuje před vylitím do odpadu reagenci zředit velkým objemem vody, aby nedocházelo k hromadění nebezpečného azidu sodného v kovovém potrubí a předešlo se tak riziku exploze.

7. Všechny vzorky krve je nutno považovat za potenciálně infekční a je nutné manipulovat s nimi opatrně (zvláště: používat ochranné rukavice, pláště a brýle).
8. Nikdy nepipetujte ústy a zabraňte tomu, aby se vzorky dostaly do kontaktu s kůží, sliznicí ani očima.
9. Zkumavy s krví a jednorázový materiál určený pro manipulaci je třeba likvidovat v kontejnerech ad hoc určených ke spálení.
10. Reagencie a odpad by měly být odstraňovány v souladu s místními požadavky.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné



Bezpečnostní list je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Před otevřením lahvičky a po jejím otevření musí být tato reagencie uchovávána při teplotě mezi 2 a 8 °C a chráněna před světlem.

Doba použitelnosti uzavřené lahvičky podle studie stability: 730 dnů/dně.

Stabilita již jednou otevřené lahvičky: reagencie je stabilní po dobu 180 dní.

ZNÁMKY ZHORŠENÍ KVALITY

Jakákoli změna fyzického vzhledu reagencí může znamenat jejich znehodnocení a taková reagencie by se neměla používat.

Pokud potřebujete další informace nebo jste obdrželi poškozený produkt, zavolejte na telefonní číslo zákaznické služby společnosti Beckman Coulter 800-742-2345 (USA nebo Kanada) nebo se obraťte na místního zástupce společnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervační látka azid sodný může v kovovém odpadním potrubí vytvářet výbušné sloučeniny. Viz bulitin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečí výbušných azidů) (16.8.76).

Po vypuštění neředěné reagencie propláchněte odpadní potrubí vodou, aby se v něm nehromadily azidové sloučeniny. Likvidace azidu sodného musí být prováděna podle příslušných místních předpisů.

MATERIÁLY POTŘEBNÉ, ALE NEDODANÉ SE SOUPRAVOU:

- Zkumavy na odběr vzorků a materiál potřebný k odběru vzorků.
- Automatické pipety s jednorázovými špičkami pro 10, 100 a 500 µl.
- Plastové zkumavy na hemolýzu.
- Chcete-li získat optimální výsledky, doporučuje se některá z následujících reagencí (dodržujte daný související postup):
Fixační/Permeabilizační reagencie IntraPrep (Ref A07802 nebo A07803)
Souprava PerFix-nc (no centrifuge assay kit), pro přípravu intra- a extracelulárního barvení (Ref B31167 nebo B31168)
- Reagencie pro fixaci leukocytů. Například: Fixační roztok IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotypová kontrola APC: Reagencie IOTest (ref. IM2475).
- Pufr (PBS: 0,01 M fosforečnan sodný; 0,145 M chlorid sodný; pH 7,2).
- Odstředivka.
- Automatické míchadlo (typu vortex).
- Průtokový cytometr.

POSTUP S REAGENCIÍ PERFIX-NC

Níže se nachází doporučený postup k použití se soupravou PerFix-nc (soupravou rozboru bez odstředování) intra a extracelulární; příprava extracelulárního barvení (ref. B31167 nebo B31168).

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavy přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. IM2475).

PŘÍPRAVA REAGENCIE SOUPRAVY

Reagencie pufru PerFix-nc 1 a 2

Není zapotřebí rekonstituce. Obě činidla lze použít přímo z lahvičky.

Příprava činidla PerFix-nc Pufr 3

Připravte si bez zvláštní přípravy konečnou reagencii 1X.

Nařeďte 10X koncentrovaný pufr PerFix-nc 3 (konečný roztok 10X) v deionizované vodě: 1 díl objemu pufru 3 s 9 díly objemu vody. Před použitím dobře promíchejte. Doporučujeme připravit si pouze takový objem konečné reagencie 1X, který je nezbytný k experimentům pro daný den.

1. Napijetujte 50 µl vzorku krve na dno každé řádně označené zkumavky. Dávejte pozor, abyste nenanesli krev na stěny zkumavky, jinak nebude řádně zpracována.
2. Napijetujte do každé zkumavky 5 or 25 µl fixační reagencie v závislosti na tom, zda požadujete nízkou či vysokou fixaci (podrobnosti o protokolech nízké/vysoké fixace naleznete v návodu k použití PerFix-nc).
3. Ihned vortexujte a inkubujte po dobu 15 min při pokojové teplotě (18 – 25 °C).

4. Promíchejte fixovanou krev znovu a přidejte do každé zkumavky 300 µl permeabilizační reagencie, okamžitě promíchejte.
5. Okamžitě přidejte do každé zkumavky 10 µl protilátek konjugovaných s fluorochromem proti intracelulárním epitopům a povrchovým molekulám (případně mohou být protilátky předem přimíchány do permeabilizační reagencie a přidány společně na konci fixačního kroku).
6. Okamžitě promíchejte a inkubujte po dobu 15 - 30 min při pokojové teplotě.
7. Přidejte do každé zkumavky 3 ml konečné reagencie 1X (připravené z 10X koncentrovaného konečného roztoku), okamžitě promíchejte; vzorek je nyní připraven k analýze na průtokovém cytometru.

POZNÁMKA: Preparáty lze skladovat po dobu 24 hodin před cytometrickou analýzou, je vhodné je skladovat při teplotě 2–8 °C a chránit je před světlem.

POSTUP S REAGENCIÍ INTRAPREP

Níže je doporučený postup při použití fixační/permeabilizační reagencie IntraPrep (Ref. A07802 nebo A07803).

Pro každý analyzovaný vzorek lze kromě testovací zkumavky přidat jednu kontrolní zkumavku, v níž jsou buňky promíchány v přítomnosti izotypové kontroly (ref. IM2475).

U vzorků krve je optimálního stupně barvení dosaženo při počtu leukocytů mezi 3 a 10×10^3 buněk / µl. Pokud je koncentrace leukocytů vyšší než 10×10^3 buněk / µl, vzorek zřeďte (11).

1. Přidejte do každé zkumavky 50 µl vzorku krve odebrané do EDTA.
2. Do každé zkumavky přidejte 100 µl reagencie IntraPrep 1 (fixace).
3. Zkumavky intenzivně vortexujte po dobu 3 až 5 sekund.
4. Provádějte inkubaci po dobu 15 minut při pokojové teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
5. Do každé zkumavky přidejte 4 ml PBS.
6. Odstředíte 5 minut při 300 x g při laboratorní teplotě. Supernatant odsajte.
7. Do každé zkumavky přidejte 100 µl reagencie IntraPrep 2 (permeabilizace). Směs nechte promíchat difuzí. NEVORTEXUJTE.
8. Provádějte inkubaci po dobu 5 minut při laboratorní teplotě, netřepete.
9. Zkumavky opatrně a ručně protřepávajte po dobu 2 až 3 sekund.
10. Do každé z testovacích zkumavek přidejte 10 µl konjugované protilátky specifické pro IOTest a podle potřeby do každé ze zkumavek kontroly přidejte 10 µl kontroly izotypu.
11. Provádějte inkubaci po dobu 15 až 20 minut při laboratorní teplotě (18–25 °C), chraňte před světlem.
12. Přidejte 4 ml PBS a odstředíte 5 minut při 300 x g při laboratorní teplotě.
13. Odsajte supernatant a resuspendujte peletu buněk pomocí 0,5 až 1 ml fixačního roztoku IOTest 3 (ref. A07800) při jeho pracovní koncentraci (1X).
14. Preparáty jsou připraveny k cytometrické analýze.

POZNÁMKA: Pokud mají být připravené vzorky před cytometrickou analýzou skladovány déle než 2 hodiny, doporučuje se skladovat je při teplotě 2–8 °C bez přístupu světla. Takto uskladněné vzorky však nevydrží déle než 24 hodin.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratořích bylo 25 vzorků plné krve zjevně zdravých dárců zpracováno za použití výše popsané reagencie. Získané výsledné počty cílových pozitivních událostí s touto reagencí jsou uvedeny v následující tabulce:

Lyzační systém PerFix-nc:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	10,98	4,13	37,60

Lyzační systém IntraPrep:

Pozitivní nosič	Počet	Průměr (%)	SD (směrodatná odchylka)	VK (%)
Lymfocyty	25	10,02	4,03	40,19

Tyto hodnoty by mely být pouze reprezentativní. Každá laboratoř si musí stanovit vlastní očekávané hodnoty na základě místní populace normálních dárců.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Data o výkonu se získávají výše popsaným postupem na vzorcích krve starých méně než 24 hodin, které byly odebrány do sterilních zkumavek se solí EDTA jakožto antikoagulačním činidlem. Analýza se provádí do 2 hodin od imunobarvení.

SPECIFICTA

Molekula CD79a je součástí disulfidicky vázaného heterodimeru CD79a/CD79b. Tento dimer se nekovalentně váže na povrchové imunoglobuliny a tvoří tak spolu s nimi B buněčné receptory (BCR) (12). K expresi CD79a dochází v rané ontogenezi buněk B, a proto je jeho lokalizace v pro-B stádiu cytoplazmatická. Později tvoří CD79a část komplexu BCR. Jeho membránová exprese přetrívá až do stádia plazmocytu, kde se stává opět cytoplazmatickou (13).

MAb HM47 reaguje s cytoplazmatickým epitopem molekuly CD79a (13). Specificita protilátky byla uznána v rámci 5. konference o lidských leukocytárních diferenciacioních antigenech ("5th HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens"), která se konala v roce 1993 v Bostonu v USA (WS kód: cB017, sekce B) (13).

PRECIZNOST

Procentuální pozitivní hodnoty byly stanoveny použitím plné krve. Každý vzorek byl analyzován 4krát, dvakrát denně v průběhu 1 dne na 2 přístrojích pomocí 2 šarží reagencí s monoklonální protilátkou CD79a-APC. Měření (% pozitivních) byla provedena na průtokovém cytometru Navios. Analýza byla provedena na základě metody CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vyhodnocení výkonu preciznosti kvantitativních měřicích metod).

Naše kritéria přijatelnosti závisí na počtu pozitivních událostí změřených pro každou populaci:

- Pokud pozitivní událost < 1 500, VK < 15 %
- Pokud pozitivní událost > 1 500, VK < 10 %

Lyzáční systém PerFix-nc:

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 1026							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Lyzáční systém IntraPrep:

Lymfocyty							
Počet pozitivních událostí (průměr) = 880							
	Mezi obslužnými pracovníky	Mezi cytometry	V rámci šarže	Mezi šaržemi	Mezi cykly	V rámci cyklu	Celkem
VK (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PŘESNOST

Přesnost CD79a-APC byla vyhodnocena porovnáním výsledků s referenční reagencí sloužící jako srovnávací látka na sadě vzorků plné krve analyzované na průtokovém cytometru Navios. Na základě rozdílu mezi výsledky testů byla stanovena odchylná mezi testem a referenční reagencí. Pokud je odchylná v rámci rozsahu přípustné chyby nebo hodnota p naznačuje, že nedošlo k žádnému významnému rozdílu (> 0,05), výsledky testů daných dvou reagencí se považují za shodné.

Získané výsledky jsou shrnutы v následující tabulce:

Lyzáční systém PerFix-nc:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,32	<3	0,005	PASS

Lyzáční systém IntraPrep:

Počet dárců = 25				
Pozitivní nosič	Průměr Δ	Kritéria Δ % buněk	Hodnota p	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,09	<3	0,659	PASS

MEZ PRÁZDNÉHO VZORKU A MEZ MĚŘITELNOSTI

Byla provedena studie v souladu se směrnici CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnocení schopnosti detekce pro klinické laboratorní postupy měření). Mez měřitelnosti (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze spolehlivě detektovat. Získané výsledky jsou shrnutы v následující tabulce:

Lyzáční systém PerFix-nc:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	0	4

Lyzáční systém IntraPrep:

Positive Target	Mez prázdného vzorku (buňky/µl)	Mez měřitelnosti (buňky/µl)
Lymfocyty	1	2

OMEZENÍ

1. Průtoková cytometrie může přinést falešné výsledky, pokud cytometr nebyl dokonale seřízen, pokud nebyly správně kompenzovány úniky fluorescence a pokud oblasti nebyly pečlivě umístěny.
2. Přesných a reproducovatelných výsledků bude dosaženo, pokud jsou použité postupy v souladu s technickým příbalovým letákem a se správnou laboratorní praxí.
3. Konjugovaná protilaterka této reagencie je kalibrována tak, aby poskytovala nejlepší možný poměr specifického signálu k nespecifickému signálu. Proto je důležité při každém testu dodržovat poměr objemu reagencie a objemu vzorku.
4. V případě hyperleukocytózy nařeďte krev v přípravku PBS tak, aby byla dosažena hodnota přibližně 5×10^9 leukocytů/l (11).
5. U určitých chorob, například závažného selhání ledvin či hemoglobinopatií, se může stát, že lýza červených krvinek bude probíhat pomalu, nedokončí se, nebo dokonce nebude možná. V tomto případě se před značením doporučuje izolovat mononukleární buňky s použitím hustotního gradientu (např. Ficoll) (14).
6. U pacientů léčených pomocí monoklonálních protilaterek proti lidským antigenům může být detekce specificky cílených antigenů snížena nebo může chybět kvůli částečné nebo celkové blokaci terapeutickými protilaterkami.
7. Výsledky analýzy CD79a-APC je nutné interpretovat s přihlédnutím k celkovému klinickému obrazu pacienta, včetně symptomů, klinické anamnézy, údajů z dalších testů a dalších vhodných informací.

Příklady a reference jsou uvedeny v příloze.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, stylizované logo a známky produktů a služeb společnosti Beckman Coulter uvedené v tomto dokumentu jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Beckman Coulter, Inc. ve Spojených státech amerických a dalších zemích.

DALŠÍ INFORMACE

Pro pacienty, uživatele nebo třetí osoby v Evropské unii a v zemích se stejným regulačním režimem (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro); pokud při používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání dojde k závažné nehodě, prosím ohlaste tuto nehodu výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a kompetentnímu vnitrostátnímu orgánu.

Summary of Safety and Performance (Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti) je k dispozici v databázi EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTORIE REVIZÍ

REVIZE AC:	Datum vydání: Říjen 2019
REVIZE	Datum vydání
AW	
Aktualizace kvůli shodě s globálními zásadami označování společnosti Beckman Coulter a dle požadavků IVD-R (EU) 2017/746:	
Přidání částí	Číslo BSI 2797, Určený uživatel, Klinická významnost, Koncentrace, Preciznost, Přesnost, Mez prázdného vzorku a mez měřitelnosti, Další informace, Historie změn.
Přidány informace	Viz část Omezení
Aktualizace formulací a typografické aktualizace	Viz části Postup, Výkon, Omezení, Varování a bezpečnostní opatření, Skladování a stabilita.
Odstranění částí	Příklad klinických použití, Reagencie, Reprodukovatelnost v rámci laboratoře, Linearita
Aktualizované části	Určené použití, Klasifikace nebezpečí podle GHS, Známky znehodnocení, Postup, Příloha.
REVIZE	Datum vydání
AX	
Aktualizované části	Přidání kazašského jazyka
Aktualizované části	Skladování a stabilita

Klíč k symbolům

Slovníček symbolů je k dispozici na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	Špecifikácie
Špecificita	CD79a
Klon	HM47
Hybridóm	NS1 x balb/c
Imunogén	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulín	IgG1
Druhy	Myš
Purifikácia	Afinitná chromatografia
Fluorochróm	Allophycocyanin (APC)
Molárny pomer	APC/Ig: 0,5 - 1,5
Excitácia λ	633/638 nm
Vrchol emisií	660 nm
Tlmiavý roztok	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA a 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugovaná protilátka

CD79a-APC

REF B36287 100 testov; 1 ml, 10 µl / test

Na diagnostické použitie *in vitro*

URČENÉ POUŽITIE

Táto protilátka konjugovaná s fluorochrómom umožňuje pomocou prietokovej cytometrie vykonávať kvalitatívnu, neautomatizovanú identifikáciu populácie buniek exprimujúcich antigén CD79a v ľudských biologických vzorkách (pozri časť „vzorky“ nižšie).

PRINCÍP

Tento test je založený na schopnosti špecifických monoklonálnych protilátok viazať sa na antigénne determinanty exprimované na leukocytoch.

Účelom indukcie permeability v cytoplazmatických membránach leukocytov je aplikácia intracelulárnych antigénnych determinant pomocou monoklonálnych fluorescenčných protilátok. Leukocyty sa potom analyzujú na flow-cytometrii.

Prietokový cytometer meria rozptyl svetla a fluorescenciu buniek. Umožňuje vymedzenie požadovanej populácie v rámci elektronického okna zadefinovaného v histograme znázorňujúcom koreláciu ortogonálneho rozptylu svetla (bočný rozptyl, SS) a rozptylu svetla v úzkom uhle (predný rozptyl, FS). Ostatné histogramy obsahujúce kombináciu dvoch rozličných parametrov dostupných na cytometrii možno použiť na podporu vo fáze gatingu v závislosti od aplikácie zvolenej používateľom.

Fluorescencia vymedzených buniek sa analyzuje s cieľom odlišiť pozitívne sfarbené udalosti od nesfarbených. Výsledky sú vyjadrené ako percento pozitívnych udalostí vzhľadom na všetky udalosti zaznamenané gatingom.

URČENÝ POUŽIVATEĽ'

Tento produkt je určený na profesionálne laboratórne použitie.

KLINICKÝ VÝZNAM

CD79a-APC je protilátka proti CD79a používaná na identifikáciu a charakterizáciu buniek exprimujúcich antigén CD79a pomocou prietokovej cytometrie. Tento výrobok sám osebe nemôže a ani nemá slúžiť na vydovozovanie akýchkoľvek diagnostických záverov.

Pri použití v kombinácii s inými markermi možno tento produkt použiť na jeden alebo viac z týchto účelov:

- ako pomôcka pri diferenciálnej diagnostike hematologicky abnormálnych pacientov s podozrením na hematopoetickú neoplazmu a na monitorovanie pacientov so znáomou hematopoetickou neoplazmou.

Pozrite si nasledujúce odkazy:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORKY

Vzorky žilovej krvi musia byť odobraté do sterilných skúmaviek, ktoré obsahujú soľ EDTA ako antikoagulačné činidlo.

Vzorky by sa mali uchovávať pri izbovej teplote (18 – 25 °C) a nemalo by sa nimi triať. Vzorky by sa mali pred odobratím testovacej vzorky homogenizovať jemným pretrapaním.

Vzorky sa musia analyzovať do 24 hodín od odberu.

KONCENTRÁCIA

Pozrite si certifikát analýzy pre konkrétnu šaržu na adrese www.beckman.com.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

1. Činidlo nepoužívajte po dátume exspirácie.
2. Nezamrazujte.
3. Pred použitím nechajte zahriať na izbovú teplotu (18 – 25 °C).
4. Minimalizujte vystavenie svetlu.
5. Zabráňte mikrobiálnej kontaminácii činidiel, inak môže dôjsť k falošným výsledkom.
6. S roztokmi protilátok obsahujúcimi azid sodný (NaN₃) by sa malo zaobchádzať opatrne. Nepožívajte ich a vyhýbajte sa akémukoľvek kontaktu s kožou, sliznicami a očami.

V médiu s obsahom kyseliny môže navyše azid sodný vytvárať potenciálne nebezpečnú kyselinu azidovodíkovú. Ak je činidlo potrebné zlikvidovať, odporúča sa ho pred vyliatím do kanalizácie zriediť vo veľkom objeme vody, aby sa predišlo riziku explózie v dôsledku hromadenia azidu sodného v kovovom potrubí.

7. Všetky vzorky krvi sa musia považovať za potenciálne infekčné, a preto sa s nimi musí narábať opatrne (predovšetkým: používajte ochranné rukavice, plášte a okuliare).
8. Nikdy nepipetujte ústami a zabráňte akémukoľvek kontaktu vzoriek s pokožkou, sliznicami a očami.
9. Skúmavky na krv a jednorazový materiál používané pri manipulácii sa musia zlikvidovať do schválených nádob určených na spálenie.
10. Činidlá a odpad by sa mali eliminovať v súlade s miestnymi požiadavkami.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné



Bezpečnostný list je dostupný na adrese beckman.com/techdocs

SKLADOVANIE A STABILITA

Toto činidlo sa musí skladovať pri teplote od 2 do 8 °C a chrániť pred svetlom pred aj po otvorení fľaštičky.

Doba použiteľnosti uzavretej fľaštičky podľa štúdie stability: 730 dní.

Stabilita otvorenej fľaštičky: činidlo je stabilné 180 dní.

ZNÁMKY ZNEHODNOTENIA

Akákoľvek zmena fyzického vzhľadu činidla môže svedčiť o zhoršení kvality a takéto činidlo by sa nemalo používať.

Ak potrebujete ďalšie informácie alebo ak je výrobok poškodený, kontaktujte stredisko zákazníckych služieb spoločnosti Beckman Coulter na telefónnom čísle 800-742-2345 (ak sa nachádzate v USA alebo Kanade) alebo kontaktujte miestneho zástupcu spoločnosti Beckman Coulter.

OBSAH

Konzervačné činidlo azid sodný môže v kovovej kanalizačnej sieti vytvárať výbušné zlúčeniny. Pozrite si informačný bulletin NIOSH: Explosive Azide Hazard (Nebezpečenstvo výbušného azidu) (16. 8. 76).

Aby nedošlo k možnému nahromadeniu azidových zlúčenín, po likvidácii neriedeného činidla vypláchnite potrubie vodou. Likvidácia azidu sodného musí prebiehať v súlade s príslušnými miestnymi predpismi.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY:

- Vzorkovacie skúmavky a materiál potrebný na vzorkovanie.
- Automatické pipety s jednorazovými špičkami na dávkovanie objemov 10, 100 a 500 µl.
- Plastové hemolytické skúmavky.
- Optimálne výsledky dosiahnete použitím ktoréhokoľvek z nasledujúcich činidel (dodržujte spojený špecifický postup):
Fixačné/permeabilizačné činidlo IntraPrep (Ref A07802 alebo A07803)
Súprava PerFix-nc Kit (no centrifuge assay kit), pre intracelulárne a extracelulárne farbenie (Ref B31167 alebo B31168)
- Činidlo na fixáciu leukocytov. Napríklad: fixačný roztok IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotypová kontrolaAPC: činidlo IOTest (Ref. IM2475).
- Tlmiaci roztok (PBS: fosforečnan sodný 0,01 M; chlorid sodný 0,145 M; pH 7,2).
- Centrifúga.
- Automatické miešadlo (typ Vortex).
- Prietokový cytometer.

POSTUP S ČINIDLOM PERFIX-NC

Nižšie je uvedený odporúčaný postup použitia so súpravou PerFix-nc (súprava analytického testu bez centrifugácie) pre preparát na intra- a extracelulárne farbenie (Ref. B31167 alebo B31168).

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. IM2475).

PRÍPRAVA ČINIDLA SÚPRAVY

Pufer 1 a 2 PerFix-nc

Nie je potrebná rekonštitúcia. Obidve činidlá sa môžu použiť priamo z liekovky.

Príprava pufra 3 PerFix-nc

Pripavte si konečné činidlo 1×.

Nariedte 10× koncentrovaný pufer 3 PerFix-nc (konečný 10× roztok) v deionizovanej vode: 1 diel pufru 3 s 9 dielmi vody. Pred použitím dobre premiešajte. Odporúčame pripraviť iba objem konečného činidla 1×, ktorý budete potrebovať na testy v daný deň.

1. Napipetujte 50 µl krvnej vzorky na dno príslušne označenej skúmavky. Dávajte pozor, aby krv nezostala na stene skúmavky. V opačnom prípade nebude správne ošetrená.
2. Do každej skúmavky napipetujte 5 or 25 µl fixačného činidla podľa toho, či sa vyžaduje nízka alebo vysoká fixácia (podrobnejšie informácie o protokoloch pre nízku/vysokú fixáciu vyhľadajte v návode na použitie činidla PerFix-nc).
3. Ihneď premiešajte a inkubujte počas 15 min. pri izbovej teplote (18 – 25° C).

- Fixovanú krv opäť premiešajte vírením, do každej skúmavky pridajte 300 µl permeabilizujúceho činidla a ihneď znovu premiešajte.
- Do každej skúmavky ihneď pridajte 10 µl protílátok konjugovaných na fluorochróm zameraných proti intracelulárny epitopom a povrchovým molekulám (protilátky je takisto možné dopredu namiešať do permeabilizačného činidla a pridať spolu na konci fixácie).
- Ihneď premiešajte vírením a inkubujte 15 - 30 minút pri izbovej teplote.
- Do každej skúmavky pridajte 3 ml konečného činidla 1× (pripraveného z 10× koncentrovaného konečného roztoku) a ihneď premiešajte vírením. Vzorka je teraz pripravená na analýzu na flow-cytometri.

POZNÁMKA: Ak budete preparáty pred cytometrickou analýzou skladovať 24 hodiny, odporúčame ich skladovať pri teplote 2 – 8 °C chránené pred svetlom.

POSTUP S ČINIDLOM INTRAPREP

V nasledujúcim teste je opísaný odporúčaný postup pre prácu s fixačným/permeabilizačným činidlom IntraPrep (Ref. A07802 alebo A07803).

Na každú analyzovanú vzorku je možné okrem testovacej skúmavky pridať aj jednu kontrolnú skúmavku, v ktorej sa zmiešajú bunky v prítomnosti izotypovej kontroly (Ref. IM2475).

Pri krvných vzorkách zaistite optimálne farbenie pri leukocytárnej koncentrácií v rozmedzí 3 až 10×10^3 buniek/µl. Ak je koncentrácia leukocytov vyššia než 10×10^3 buniek/µl, vzorku nariedte (11).

- Do každej skúmavky pridajte 50 µl vzorky krvi v EDTA.
- Do každej skúmavky pridajte 100 µl činidla IntraPrep 1 (fixácia).
- Skúmavku intenzívne miešajte 3 až 5 sekúnd.
- Inkubujte 15 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
- Do každej skúmavky pridajte 4 ml PBS.
- Odstredujte 5 minút pri 300 x g pri izbovej teplote. Nasatím odoberte supernatant.
- Do každej skúmavky pridajte 100 µl činidla IntraPrep 2 (permeabilizácia). Nechajte zmiešať difúziou. NEMIEŠAJTE.
- Inkubujte 5 minút pri izbovej teplote bez trepania.
- Skúmavky opatrne manuálne potraste 2 až 3 sekundy.
- Pridajte 10 µl špecifickej konjugovanej protilátky IOTest do každej testovacej skúmavky a v prípade potreby 10 µl izotopovej kontroly do každej kontrolnej skúmavky.
- Inkubujte 15 až 20 minút pri izbovej teplote (18 – 25 °C) bez prístupu svetla.
- Pridajte 4 ml PBS a odstredujte pri 300 x g na 5 minút pri izbovej teplote.
- Nasatím odstráňte supernatant a resuspendujte bunkový pelet v 0,5 až 1 ml fixačného roztoku IOTest 3 (Ref. A07800) s pracovnou koncentráciou (1X).
- Preparáty sú pripravené na cytometrickú analýzu.

POZNÁMKA: Ak je pred cytometrickou analýzou nutné preparáty na viac ako 2 hodiny skladovať, odporúča sa uchovať ich pri teplote 2 – 8 °C a bez prístupu svetla. Tako uskladnené preparáty však neuchovávajte dlhšie ako 24 hodín.

ČAKÁVANÉ HODNOTY

V našich laboratóriach sa vzorky plnej krvi od 25 zjavne zdravých darcov spracovali pomocou vyššie popísaného činidla. Získané výsledky pre príslušné počty skúmaných pozitívnych udalostí s týmto činidlom sú uvedené v tabuľke nižšie:

Lyzacný systém PerFix-nc:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	10,98	4,13	37,60

Lyzacný systém IntraPrep:

Pozitívny cieľ	Počet	Priemer (%)	SD	CV (%)
Lymfocyty	25	10,02	4,03	40,19

Tieto hodnoty slúžia len ako reprezentatívne údaje. Každé laboratórium by si malo určiť vlastné očakávané hodnoty na základe miestnej populácie normálnych darcov.

VÝKONNOSŤ

Údaje o výkonnosti boli získané pomocou vyššie opísaného postupu z menej ako 24 hodín starých vzoriek krvi odobraných do sterilných skúmaviek so soľou EDTA ako antikoagulačným činidlom. Analýza prebehla do 2 hodín od imunologického farbenia.

ŠPECIFICITA

Molekula CD79a je súčasťou disulfidicky viazaného heterodiméru CD79a/CD79b. Tento dimér sa nekovalentne viaže na povrchové imunoglobulíny a tvoria tak spolu s nimi B bunkové receptory (BCR) (12). Ku expresii CD79a dochádza v rannej ontogenézii buniek B, a preto je jeho lokalizácia v pre-BS štadiu cytoplazmatická. Neskôr tvoria CD79a časť komplexu BCR. Jeho membránová expresia pretrváva až do štadia plazmocytu, kde sa stáva opäť cytoplazmatická (13).

MAb HM47 reaguje s cytoplazmatickým epitopom molekuly CD79a (13). Špecificka protilátky bola uznaná v rámci 5. konferencie o ľudských leukocytárnych diferenciáčnych抗原 ("5th HLDA Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens"), ktorá sa konala v roku 1993 v Bostonе v USA (WS kód: cB017, sekcia B) (13).

PRESNOSŤ

Percentuálne pozitívne hodnoty boli stanovené s použitím plnej krvi. Každá vzorka bola analyzovaná 4-krát, dva razy denne počas 1 dňa na 2 prístrojoch pri použití 2 šarží činidiel s monoklonálnymi protilátkami proti CD79a-APC. Merania (% pozitívnych) sa vykonávali na prietokovom cytometri Navios. Analýza sa

vykonávala podľa metódy CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Hodnotenie zhodnosti pri metódach kvantitatívneho merania).

Naše kritériá prijateľnosti závisia od počtu pozitívnych udalostí nameraného v jednotlivých populáciách:

- Ak je pozitívnych udalostí < 1500, CV < 15 %
- Ak je pozitívnych udalostí > 1500, CV < 10 %

Lyzacný systém PerFix-nc:

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 1026							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Lyzacný systém IntraPrep:

Lymfocyty							
Počet pozitívnych udalostí (priemer) = 880							
	Medzi operátormi	Medzi cytometrami	V rámci jednej šarže	Medzi šaržami	Medzi analýzami	V rámci jednej analýzy	Celkovo
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
VÝSLEDKY	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRESNOSŤ

Presnosť CD79a-APC bola vyhodnotená porovnaním výsledkov s porovnávacím referenčným činidlom na súbore vzoriek plnej krvi analyzovaných v prieskumovej cytometrii Navios. Odchýlka medzi testovaným a referenčným činidlom bola stanovená na základe rozdielu medzi výsledkami testov. Ak je odchýlka v medziach prípustného chybového rozsahu, alebo ak p-hodnota svedčí o nevýznamnom rozdieli (> 0,05), výsledky testovania daných dvoch činidiel sa považujú za rovnocenné.

Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Lyzacný systém PerFix-nc:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,32	<3	0,005	PASS

Lyzacný systém IntraPrep:

Počet darcov = 25				
Pozitívny cieľ	Priemer Δ	Kritériá Δ % buniek	p-hodnota	VÝSLEDKY
Lymfocyty	0,09	<3	0,659	PASS

MEDZA PRÁZDNEJ VZORKY A MEDZA MERATEĽNOSTI

Bola vykonaná štúdia v súlade s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Hodnotenie detektívnej schopnosti pre postupy klinických laboratórnych meraní). Medza merateľnosti (LoD) je najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať. Získané výsledky sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke:

Lyzacný systém PerFix-nc:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/ μ l)	Medza merateľnosti (buniek/ μ l)
Lymfocyty	0	4

Lyzacný systém IntraPrep:

Positive Target	Medza prázdnej vzorky (buniek/ μ l)	Medza merateľnosti (buniek/ μ l)
Lymfocyty	1	2

OBMEDZENIA

1. Prieskumová cytometria môže vytvárať falošné výsledky, ak cytometer nie je správne zarovnaný, ak úniky fluorescencie nie sú správne kompenzované, alebo ak nie sú oblasti správne umiestnené.
2. Presné a reprodukovateľné výsledky sa získajú len vtedy, ak sa použijú postupy v súlade s technickými údajmi v príbalovom letáku a v súlade s osvedčenou laboratórnu praxou.
3. Konjugovaná protílátka tohto činidla sa kalibruje tak, aby ponúkala najlepší pomer špecifického signálu/nešpecifického signálu. Preto je dôležité pri každom teste dodržať pomer objem činidla/objem vzorky.
4. V prípade hyperleukocytózy zriedte krv v PBS na koncentráciu približne 5×10^9 leukocytov/l (11).
5. Pri niektorých chorobných stavoch, akými sú napríklad závažné zlyhanie obličiek alebo hemoglobinopatie, môže byť lysis červených krviniek pomalá, neúplná alebo dokonca nemožná. V takom prípade sa odporúča pred farbením izolovať mononukleárne bunky pomocou hustotného gradientu (napríklad Ficoll) (14).
6. U pacientov liečených monoklonálnymi protílátkami proti ľudským protílátkam môže byť detekcia špecifických cieleným antigénom znížená alebo môže úplne chýbať v dôsledku čiastočného alebo úplného blokovania terapeutickej protílátky.

7. Pri interpretácii výsledkov CD79a-APC treba brať do úvahy celkový klinický obraz pacienta vrátane symptómov, klinickej anamnézy, výsledkov ďalších testov a iných súvisiacich informácií.

Príklady a referencie nájdete v Dodatku.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

Beckman Coulter, štylizované logo a známky produktov a služieb spoločnosti Beckman Coulter spomenuté v tomto dokumente sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Beckman Coulter, Inc. v USA a ďalších krajinách.

DOPLŇUJÚCE INFORMÁCIE

Pre pacienta/používateľa/tretiu stranu v Európskej únii a v krajinách s identickým regulačným režimom (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro): ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne vážna nehoda, nahláste ju výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu národnému orgánu.

Summary of Safety and Performance (Súhrn informácií o bezpečnosti a výkonnosti) je k dispozícii v databáze EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRIA REVÍZIÍ

REVÍZIA AC:	Dátum vydania: Október 2019
REVÍZIA	Dátum vydania
AW	
Aktualizácie kvôli súladu s dokumentom Beckman Coulter Global Labelling Policy (Globálne pravidlá označovania spoločnosti Beckman Coulter) a podľa požiadaviek nariadenia IVDR (EÚ) 2017/746:	Február 2022
Pridané časti	Číslo BSI 2797, Určený používateľ, Klinický význam, Koncentrácia, Zhodnosť, Presnosť, Medza prázdznej vzorky a medza merateľnosti, Doplňujúce informácie, História revízií.
Pridané informácie	Pozri časti Obmedzenia
Aktualizácie formulácií alebo typografické aktualizácie	Pozri časti Postup, Výkonnosť, Obmedzenia, Výstraha a opatrenia, Skladovanie a stabilita.
Odstránené časti	Príklad klinických aplikácií, Činidlá, Intralaboratórna reprodukovateľnosť, Linearita
Aktualizované časti	Určené použitie, Klasifikácia nebezpečenstiev podľa GHS, Známky zhoršenia kvality, Postup, Dodatok.
REVÍZIA	Dátum vydania
AX	
Aktualizované časti	Pridať kazaštinu
Aktualizované časti	Skladovanie a stabilita

Popis symbolov

Slovnik symbolov je dostupný na adrese beckman.com/techdocs (číslo dokumentu B60062)

	규격
특이도	CD79a
클론	HM47
하이브리도마	NS1 x balb/c
면역원	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
면역글로불린	IgG1
종	생쥐
정제	친화성 크로마토그래피
형광색소	Allophycocyanin (APC)
분자비	APC/Ig: 0.5 - 1.5
λ 자극	633/638 nm
방출 피크	660 nm
완충액	PBS pH 7.2 + 2mg/mL BSA 및 0.1 % NaN ₃

IOTest 복합 항체 CD79a-APC

REF B36287 100 테스트; 1 mL, 10 µL / test

체외 진단용

사용 목적

본 형광색소 결합 항체를 사용 시 유세포 분석법으로 인간의 생물학적 검체에 있는 CD79a 항원을 나타내는 세포군의 정성적 동정 및 비자동 동정을 수행할 수 있습니다(아래 "검체" 섹션 참조).

원리

이 검사는 백혈구로 발현되는 항원 결정기에 특이적 단일클론 항체가 결합할 수 있는 능력에 기초합니다.

단일 클론 형광 항체를 이용한 세포 내 항원 결정기 입증을 위해 백혈구 세포질막과 핵막에 삼투성이 유도됩니다. 그런 다음 유세포 측정기로 백혈구를 측정합니다.

유세포 분석기는 세포의 빛 확산과 형광 영역을 측정합니다. 유세포 분석기를 사용하면 빛의 직교 확산(측면 산란, SS)과 좁은 각의 광확산(전방 산란, FS)의 상호 관계를 지정하는 막대그래프상에 정의된 전자 창 내에서 관심 개체의 한계를 결정할 수 있습니다. 유세포 분석기에서 사용할 수 있는 두 가지 파라메터를 결합하는 기타 막대그래프를 사용자가 선택한 애플리케이션에 따라 게이팅 단계에서 지원 자료로 사용 가능합니다.

범위가 결정된 세포의 형광 영역을 분석하여 명확하게 염색된 이벤트와 염색되지 않은 이벤트를 구분합니다. 분석 결과는 게이팅으로 획득한 전체 이벤트와 비교한 양성 이벤트의 비율로 표현합니다.

의도된 사용자

본 제품은 실험실 전문가용입니다.

임상 관련성

CD79a-APC은(는) 유세포 분석법으로 CD79a 항원을 나타내는 세포를 식별하고 특성화하는데 사용하는 CD79a 항체입니다. 본 제품만 사용하여 진단과 관련된 결론을 내릴 수 없으며, 해당 용도로 사용해서도 안 됩니다.

다른 표지자와 함께 사용하는 경우 이 제품은 다음 중 하나 이상의 기능에 사용할 수 있습니다.

- 혈액암을 보유한 것으로 의심되는 혈액학적 이상을 겪는 환자의 감별 진단을 위한 보조 수단으로 활용하거나 알려진 혈액암을 보유한 환자를 모니터링하는데 사용.

다음 참조를 살펴보십시오.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

검체

정맥혈은 EDTA 염을 항응고제로 포함한 무균 튜브를 사용하여 채취해야 합니다.

검체는 실온(18~25°C)에 보관해야 하며 흔들어서는 안 됩니다. 검사 검체를 채취하기 전에 부드럽게 교반하여 검체를 균질화해야 합니다.

검체는 정맥전자 후 24시간 이내에 분석해야 합니다.

농도

www.beckman.com에서 로트별 분석증명서를 확인할 수 있습니다.

경고 및 주의 사항

1. 유효 기간이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
2. 냉동하지 마십시오.
3. 사용 전 실온(18~25°C)에 두십시오.
4. 빛 노출을 최소화하십시오.
5. 시약이 미생물에 오염되지 않도록 하십시오. 그러지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다.
6. 아지드화나트륨(NaN₃)을 함유한 항체 용액은 주의해서 다루어야 합니다. 흡입을 피하고 피부, 점막 및 눈에 절대 닿지 않도록 하십시오. 또한 산성 매질에 함유된 아지드화나트륨은 잠재적 위험 물질인 히드라조산을 만들어낼 수 있습니다. 시약을 폐기할 때는 금속 파이프 내 아지드화나트륨 축적과 폭발 위험을 방지하기 위해 다량의 물에 희석한 후 배수 시설로 흘려보내야 합니다.

- 모든 혈액 검체는 잠재적으로 전염성이 있다고 간주하고 주의해서 다루어야 합니다(특히 보호용 장갑, 가운 및 보안경 착용).
- 피펫을 절대 입으로 사용하지 않도록 하고 검체가 피부, 점막 및 눈에 닿지 않도록 하십시오.
- 취급에 사용한 혈액 투브 및 일회용 물질은 소각용 특수 용기에서 폐기해야 합니다.
- 시약 및 폐기물은 현지 요구 사항에 따라 제거해야 합니다.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS

안전보건자료는 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다

보관 및 안정성

이 시약은 바이알 개봉 전후에 2~8°C로 유지하면서 빛으로부터 보호해야 합니다.

안정성 시험에 따른 밀봉 바이알 유효 기간: 730일.

개봉한 바이알의 안정성: 시약은 180일 동안 안정적입니다.

성능 저하 증거

시약 외관에 물리적 변화가 있는 경우 성능 저하를 나타내는 것일 수 있으므로 시약을 사용해서는 안 됩니다.

자세한 정보가 필요하거나 손상된 제품을 받은 경우에는 Beckman Coulter 고객 서비스에 800-742-2345(미국 또는 캐나다)로 또는 현지 Beckman Coulter 담당자에게 문의하십시오.

목차

소디움 아자이드 보존제는 금속 배수관에서 폭발성 화합물을 형성할 수 있습니다. NIOSH 게시판을 참조하십시오. Explosive Azide Hazard(폭발성 아자이드 유해물질)(76/8/16)

아자이드 화합물의 축적 가능성을 방지하려면 희석되지 않은 시약을 폐기한 다음 폐기 파이프를 물로 세척하십시오. 소디움 아자이드의 폐기는 해당 지역 규정을 따라야 합니다.

필요하지만 키트와 함께 제공되지 않는 품목:

- 검체 투브와 검체 채취에 필요한 물질.
- 10, 100 및 500µL용 일회용 팁이 있는 자동 피펫.
- 플라스틱 용혈 투브.
- 최적의 결과를 얻으려면 다음 시약이 권장됩니다(관련 특정 절차 준수).

IntraPrep 고정/침투화 시약(참조 A07802 또는 A07803).

세포내 및 세포외 염색 준비를 위한 PerFix-nc 키트 (no centrifuge assay kit) (참조 B31167 또는 B31168).

- 백혈구 고정 시약. 예: IOTest 3 고정액(참조 A07800).
- 동형 정도관리물질APC: IOTest 시약(참조 IM2475).
- 완충 액(PBS: 0.01M 인산나트륨, 0.145M 염화나트륨, pH 7.2).
- 원심분리기.
- 자동 교반기(교반 유형).
- 유세포 분석기.

PERFIX-NC 시약 이용 시 절차

다음은 세포 내 및 세포 외 염색 준비용 PerFix-nc 키트(원심분리 필요 없는 분석 키트)(REF B31167 또는 B31168)의 권장 사용 절차입니다.

분석할 각 검체마다 검사 투브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 투브를 추가할 수 있습니다(참조 IM2475).

키트 시약 준비

PerFix-nc 완충제 1 및 2 시약

재구성이 필요하지 않습니다. 두 시약 모두 약병에 들어있던 상태 그대로 사용할 수 있습니다.

PerFix-nc 완충액 3 시약 준비

최종 1배 시약을 즉석에서 준비합니다.

10배 농축 PerFix-nc 완충제 3(최종 10배 용액)을 탈염수로 희석시킵니다(완충제 3과 물의 볼 량비 1:9). 잘 혼합한 후 사용합니다. 당일 실험에 필요한 최종 1배 시약만 준비하는 것이 좋습니다.

- 올바른 라벨을 부착한 각 투브의 밑면에 50 µL의 혈액 표본을 피펫을 사용하여 추가합니다. 투브 측면에 혈액이 묻으면 옮기거나 처리되지 않으므로 주의합니다.
- 필요한 고정 수준에 따라 각 투브에 5 or 25µL의 고정 시약을 첨가하세요(약한/강한 고정을 위한 프로토콜의 세부 정보는 PerFix-nc 사용 안내 참조).
- 즉시 교반한 후 실온(18 – 25°C)에서 15분간 배양합니다.
- 고정된 혈액을 다시 휘젓고 각 투브에 300 µL의 침투화 시약을 추가한 후 즉시 휘젓습니다.
- 각 투브에 세포내 에피토프와 표면 분자에 대한 10 µL의 형광 색소 결합 항체를 즉시 추가합니다. 또는 항체를 침투화 시약에 미리 혼합하고 고정 단계 끝에 함께 추가할 수 있습니다.
- 즉시 휘저은 다음 상온에서 15 - 30 분 동안 배양합니다.
- 각 투브에 3 mL의 최종 1배 시약(10배 농축 최종 용액에서 준비)을 추가하고 즉시 휘젓습니다. 이제 유세포 분석기에서 견본을 분석할 수 있습니다.

참고: 조제용 물질은 혈구 계산 분석 이전에 24 시간 동안 보관할 수 있으며 직사광선을 피해 2 – 8°C 온도에서 보관하는 것이 좋습니다.

IntraPrep 시약 이용 시 절차

다음은 IntraPrep 고정/침투화 시약 사용 시 권장 되는 절차입니다(참조 A07802 또는 A07803).

분석할 각 검체마다 검사 튜브와 더불어 동형 대조물질이 있는 상태에서 세포를 혼합하는 하나의 정도관리물질 튜브를 추가할 수 있습니다(참조 IM2475).

혈액 표본의 경우 3 및 10×10^3 cells / μL 간의 여러 백혈구를 이용하여 최적의 염색 효과를 얻을 수 있습니다. 백혈구 농도가 10×10^3 cells/ μL 보다 높은 경우에는 희석시킵니다 (11).

1. EDTA에 채취된 50 μL 의 혈액 검체 각 튜브에 첨가합니다.
2. 각 튜브에 100 μL 의 IntraPrep 시약 1(고정 시약)을 추가합니다.
3. 튜브를 3~5초 동안 강하게 교반하십시오.
4. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15분 동안 배양하십시오.
5. 4mL의 PBS를 각 튜브에 첨가합니다.
6. 상온에서 300 x g로 5분 동안 원심분리합니다. 흡입 시 상청액을 제거하십시오.
7. 각 튜브에 100 μL 의 IntraPrep 시약 2(고정)를 첨가하십시오. 확산에 의해 혼합되도록 들판합니다. 교반하지 마십시오.
8. 상온에서 5분간 흔들지 않고 배양합니다.
9. 튜브를 2~3초간 신중하게 손으로 흔드십시오.
10. 10 μL 의 특정 IOTest 결합 항체를 각 검사 튜브에 첨가하고, 필요에 따라 10 μL 의 동형 정도관리물질을 각 정도관리물질 튜브에 첨가합니다.
11. 실온(18~25°C)에서 빛을 피해 15~20분 동안 배양하십시오.
12. 4mL의 PBS를 첨가하고 300 x g를 실온에서 5분간 원심분리합니다.
13. 상청액을 흡입으로 제거하고 작업 농도(1X)에서 세포총을 0.5~1mL의 IOTest 3 고정액(참조 번호: A07800)으로 재현탁합니다.
14. 유세포 분석 준비가 완료되었습니다.

참고: 조제용 물질을 혈구 계산 분석 이전에 2 시간 이상 보관하려는 경우에는 직사광선을 피해 2 – 8°C 온도에서 보관하는 것이 좋습니다. 그러나 보관된 조제용 물질은 24시간 이내에 모두 사용해야 합니다.

예상 수치

실험실에서 25명의 건강한 공여자의 전혈 검체를 위에 설명된 시약을 사용하여 처리했습니다. 이 시약에서 관심 대상의 양성 이벤트 수 계산을 위해 얻은 결과는 아래 표와 같습니다.

PerFix-nc 용해 시스템:

양성 표적	번호	평균(%)	표준 편차	CV(%)
림프구	25	10.98	4.13	37.60

IntraPrep 용해 시스템:

양성 표적	번호	평균(%)	표준 편차	CV(%)
림프구	25	10.02	4.03	40.19

위 값은 전형적인 값으로만 참고해야 합니다. 각 실험실은 소재 지역의 정상 공여자 집단을 통해 고유한 예상값을 설정해야 합니다.

성능

성능 데이터는 위에 설명한 절차를 이용하여 이전에 EDTA 염을 항응고제로 하여 무균 튜브에서 수집한 지 24시간 미만인 혈액 검체로 획득합니다. 분석은 면역염색 후 2시간 이내에 수행됩니다.

특이도

CD79a 분자는 CD79a/CD79b 이황화 결합 이질이합체의 일부로, 세포 표면 면역글로불린과 비공유 결합되어 B 세포 수용체(BCR)를 형성합니다(12). CD79a 발현은 B 세포의 개체발생 초기에 나타나며, 따라서 pro-B 단계에서의 국소화는 세포질입니다. 나중에 CD79a는 BCR의 일부를 형성합니다. 막 발현은 국소화가 다시 한 번 세포 질이 되는 원형질 단계까지 지속됩니다(13).

MAb HM47은 CD79a 분자의 세포질내 항원 결정인자와 반응합니다(13). 1993년 미국 보스톤에서 열린 인간 백혈구 감별 항원에 관한 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens(제 5차 HLDA 워크숍)에서 CD79a에 할당되었습니다(WS 코드: cB017, 섹션 B)(13).

정밀도

양성 비율 값은 전혈을 사용하여 측정되었습니다. 각 검체는 2개의 CD79a-APC 단일 클론 항체 시약 로트를 사용하여 2개의 장비에서 하루 동안 일일 2회 씩 4번 실행되었습니다. 측정값(양성 비율)은 Navios 유세포 분석기로 도출했습니다. 분석은 CLSI 방법 EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods(EP5-A2: 정량적 측정 방법의 정밀도 성능 평가)를 기반으로 수행했습니다.

허용 기준은 각 집단에서 측정한 양성 이벤트 수에 따라 다릅니다.

- 양성 이벤트 수가 < 1,500인 경우 CV < 15 %
- 양성 이벤트 수가 > 1,500인 경우 CV < 10 %

PerFix-nc 용해 시스템:

림프구							
양성 이벤트 수(평균) = 1026							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.79	0.95	3.88	1.03	1.73	2.97	4.13
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep 용해 시스템:

립프구							
양성 이벤트 수(평균) = 880							
	작업자 간	유세포 분석기 간	로트 내	로트 간	실행 간	실행 내	총계
CV(%)	1.24	2.36	4.79	1.22	2.36	3.98	5.48
결과	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

정확도

CD79a-APC의 정확도는 그 결과를 Navios 유세포 분석기로 처리된 전혈 검체에 공인 참조 시약을 가한 값과 비교하여 평가했습니다. 검사 시약과 참조 시약 간 바이어스는 검사 결과 간 차이를 기반으로 지정되었습니다. 바이어스가 허용 가능한 오차 범위 내에 있거나 p-값이 유의한 차이를 나타내지 않는 경우(> 0.05) 두 시약의 검사 결과는 동일한 것으로 간주됩니다.

얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

PerFix-nc 용해 시스템:

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
립프구	0.32	<3	0.005	PASS

IntraPrep 용해 시스템:

공여자 수 = 25				
양성 표적	평균 Δ	Δ % 세포 기준	p-값	결과
립프구	0.09	<3	0.659	PASS

공시료 최저 검출한계 및 검출한계

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures(CLSI EP17-A2, 임상 실험실 측정 절차에 대한 검출 능력 평가)에 따라 연구를 실시했습니다. 검출한계(LoD)는 일관되게 검출 가능한 분석물질의 최저 농도입니다. 얻은 결과는 아래 표에 요약되어 있습니다.

PerFix-nc 용해 시스템:

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
립프구	0	4

IntraPrep 용해 시스템:

Positive Target	공시료 최저 검출한계(세포/µL)	검출한계(세포/µL)
립프구	1	2

한계

- 유세포 분석기가 완벽하게 정렬되지 않은 경우, 형광 누출이 올바르게 보정되지 않은 경우 또는 영역 위치를 신중하게 지정하지 않은 경우 유세포 분석법에서 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
- 사용한 절차가 동봉된 기술 책자의 내용을 따르고 실험실 모범 사례와 호환되는 경우 정확하고 재현 가능한 결과를 얻을 수 있습니다.
- 이 시약의 결합 항체는 최상의 특이/비특이 신호비를 제공하도록 보정됩니다. 그러므로 모든 검사에서 시약의 용적/검체 용적 비율을 준수하는 것이 중요합니다.
- 과백혈구 증가증의 경우 혈액을 PBS에 흐석하여 대략 백혈구 5×10^9 개/L 값을 얻어야 합니다(11).
- 심한 신부전 또는 혈색소병증 같은 특정 질병 상태에서 적혈구의 용해는 느리거나 불완전하거나 심지어는 불가능할 수도 있습니다. 이러한 경우 염색 전에 밀도 구배(예: Ficoll)를 사용하여 단핵구 세포를 분리하는 것이 좋습니다(14).
- 항 인간 단일 클론 항체 요법으로 치료받은 환자에서, 특이 표적 항원의 검출이 치료 항체에 의한 일부 또는 전체 차단으로 인해 감소하거나 이루어지지 않을 수 있습니다.
- CD79a-APC 결과는 증상, 병력, 추가 검사 데이터, 기타 적절한 정보 등 환자의 모든 임상 증상을 고려하여 해석해야 합니다.

예시와 참고 자료는 부록을 참조하십시오.

상표

본 문서에 포함된 Beckman Coulter, 스타일 로고, Beckman Coulter 제품 및 서비스 마크는 미국 및 기타 국가에서 Beckman Coulter, Inc.의 상표이거나 등록 상표입니다.

추가 정보

유럽 연합 및 이와 동일한 규정 체제(EU 규정 2017/746, 체외 진단을 의료 기기 관련)를 사용하는 국가에 거주하는 환자/사용자/타사의 경우, 이 장치의 사용 중이나 사용으로 인해 심각한 상황이 발생했다면 제조업체 및/또는 공인 담당자와 해당 국가의 담당 기관에 신고하십시오.

Summary of Safety and Performance(안전성 및 성능에 관한 개요)는 ec.europa.eu/tools/eudamed 주소의 EUDAMED 데이터베이스에서 확인할 수 있습니다.

개정 이력

개정판 AC:	출시일: 2019년 10월
개정 AW	발행 날짜 2022년 2월

Beckman Coulter 글로벌 라벨 지정 정책 및 IVD-R (EU)
2017/746 요건에 따라 업데이트했습니다.

추가된 섹션	BSI 2797 번호, 대상 사용자, 임상적 관련성, 농도, 정밀도, 정확도, 공시료 최저 검출한계 및 검출한계, 추가 정보, 개정 이력.
추가된 정보	한계 섹션 참조
언어적 표현이나 글자 배치를 업데이트했습니다.	절차, 성능, 한계, 경고 및 주의 사항, 보관 및 안정성 섹션을 참조하십시오.
삭제된 섹션	임상 용도의 예, 시약, 실험실 내 재현성, 직선성
업데이트된 섹션	사용목적, GHS 유해물질 등급, 성능 저하 증거, 절차, 부록.

개정	발행 날짜
AX	
업데이트된 섹션	카자흐어 추가
업데이트된 섹션	보관 및 안정성

기호 목록

기호 용어집은 beckman.com/techdocs에서 확인할 수 있습니다(문서 번호 B60062)

	Spesifikasyonlar
Özgüllük	CD79a
Klon	HM47
Hibridoma	NS1 x balb/c
İmmünojen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobulin	IgG1
Türler	Fare
Aritma	Afinite Kromatografisi
Florokrom	Allophycocyanin (APC)
Molar oran	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ eksitasyonu	633/638 nm
Emisyon piki	660 nm
Tampon	PBS pH 7,2 artı 2 mg/mL BSA ve %0,1 NaN ₃

IOTest

Konjuge Antikor

CD79a-APC

REF B36287 100 test; 1 mL, 10 μ L / test

In Vitro Diagnostik Kullanım içindir

KULLANIM AMACI

Bu florokrom konjuge antikor, akış sitometrisi kullanılarak insan biyolojik örneklerinde var olan CD79a抗jenini eksprese eden hücre popülasyonlarının otomatik olmayan ve kalitatif tanımlamasına olanak tanır (aşağıdaki "Örnekler" bölümünü bakın).

İLKE

Bu test, spesifik monoklonal antikorların lökositler tarafından eksprese edilen antijenik belirleyicilere bağlanabilmesine dayanmaktadır.

Monoklonal floresan antikorlar yoluyla intraselüler antijenik determinanların demonstrasyonu için lökositlerin sitoplazmik membranlarında permeabilite indüklenir. Lökositler sonra akış sitometrisi ile analiz edilir.

Akıç sitometrisi ışık difüzyonunu ve hücre floresansını ölçer. Bu durum, ilgili popülasyonun, ışığın ortogonal difüzyonu (Yana Yayılmaya veya SS) ve dar açılı ışığın difüzyonu (İleri Yayılmaya veya FS) ile ilişkilendirilen histogram üzerinde tanımlanmış elektronik pencerede sınırlanmasını sağlar. Sitometredeki farklı parametrelerden ikisini birleştiren diğer histogramlar, kullanıcının seçtiği uygulamaya bağlı olarak kapılama aşamasında destek olarak kullanılabilir.

Sınırlı hücrelerin floresansı analiz edilerek pozitif boyalı olaylar boyasızlardan ayrılır. Sonuçlar pozitif olayların geçiş ile edinilmiş tüm olaylara yüzdesi olarak ifade edilir.

HEDEF KULLANICI

Bu ürün, laboratuvara profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.

KLİNİK GEÇERLİLİK

CD79a-APC, akış sitometriyle CD79a抗jenini eksprese eden hücreleri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla kullanılan bir CD79a antikorudur. Bu ürün tek başına, herhangi bir tanı sonucu oluşturamaz ve tanı sonucu oluşturmak üzere tasarlanmamıştır.

Bu ürün, diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığıda aşağıdaki işlevlerden biri veya daha fazlası için kullanılabilir:

- Hematopoietik neoplazmı olduğundan şüphelenilen hematolojik olarak anomal hastalarda ayırcı tanıya yardımcı olmak ve bilinen hematopoietik neoplazmı olan hastaları izlemek için.

Şu referanslara bakın:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ÖRNEKLER

Antikoagulan olarak EDTA tuzu içeren steril tüpler kullanılarak venöz kan alınmalıdır.

Örnekler oda sıcaklığında (18-25°C) tutulmalı ve çalkalanmamalıdır. Örnekler test örneği alınmadan önce hafifçe çalkalanarak homojenize edilmelidir.

Örnekler venipunktür sonrası 24 saat içinde analiz edilmelidir.

KONSANTRASYON

Lota özel Analiz Sertifikası için www.beckman.com adresine bakın.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. Reaktifi son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
2. Dondurmayın.
3. Kullanmadan önce oda sıcaklığına (18-25°C) getirin.
4. Işığa maruz kalmasını en aza indirin.
5. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının yoksa yanlış sonuçlar oluşabilir.
6. Sodyum azid (NaN₃) içeren antikor solüsyonları dikkatle işlenmelidir. Yutmayıñ ve cilt, mukoza ve gözlerle temasından kaçının.

İçindeki asit ortamında, sodyum azid potansiyel olarak tehlikeli hidrazoik asit oluşturabilir. Atılması gerekiyorsa, metal borularla sodyum azid birikmesini ve patlama riskini önlemek için, reaktifin drenaj sistemine dökülmeden önce çok miktarda suyla seyreltilmesi önerilmektedir.

- Tüm kan örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmeli ve dikkatle ele alınmalıdır (özellikle koruyucu eldiven, önlük ve gözlük takılmalıdır).
- Asla ağızla pipetleme yapmayın ve örneklerin cilt, mukoza veya gözle herhangi bir şekilde temas etmesini önleyin.
- Taşıma için kullanılan kan tüpleri ve tek kullanımlık malzeme, yakma amacıyla özel kaplara atılmalıdır.
- Reaktifler ve atıklar yerel gereksinimlere göre elimine edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır



Güvenlik Veri Sayfası beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir

SAKLAMA VE STABİLİTE

Bu reaktifin, şişe açılmadan önce ve açıldıktan sonra 2 ile 8°C arasında tutulması ve ışıktan korunması gereklidir.

Stabilite çalışması için şişe raf ömrü: 730 gün.

Açılan şişenin stabilitesi: reaktif 180 gün stabildir.

BOZULMA GÖSTERGESİ

Reaktiflerin fiziksel görünümündeki herhangi bir değişiklik bozulmayı gösterebilir ve reaktif kullanılmamalıdır.

Ek bilgi almak isterseniz veya aldığınız ürün hasarlı çıktıysa, 800-742-2345 numaralı telefondan (ABD veya Kanada) Beckman Coulter Müşteri Hizmetlerini arayın veya yerel Beckman Coulter Temsilcinizle temas kurun.

İÇİNDEKİLER

Sodyum azid koruyucu maddesi metal kanalizasyon hatlarında patlayıcı bileşimler oluşturabilir. NIOSH Bültenine bakın: Explosive Azide Hazard (Patlayıcı Azide Tehlikesi) (16.8.76).

Azid bileşenlerinin olası birikimini engellemek amacıyla, seyreltilmemiş reaktifi çöpe attıktan sonra atık borularını bol suyla yıkayın. Sodyum azid, uygun yerel düzenlemelere göre çöpe atılmalıdır.

GEREKLİ OLAN ANCAK KİT İLE BİRLİKTE VERİLMEMEN MALZEMELER:

- Numune alma tüpleri ve numune alma için gerekli malzemeler.
- 10, 100 ve 500 µL için tek kullanımlık ucu otomatik pipetler.
- Plastik hemoliz tüpleri.
- Optimum sonuçlar elde etmek için şu reaktiflerden herhangi biri önerilir (ilgili spesifik işlemi izleyin).
IntraPrep Fiksasyon/Permeabilizasyon reaktifi (Ref A07802 veya A07803).
PerFix-nc Kiti (no centrifuge assay kit), Intra- Ekstra Selüler Boyama Präparati için (Ref B31167 veya B31168).
- Lökosit fiksasyon reaktifi. Örneğin: IOtest 3 Fiksasyon Solüsyonu (Ref. A07800).
- İzotip kontrolüAPC: IOtest reaktifi (Ref. IM2475).
- Tampon (PBS: 0,01 M sodyum fosfat; 0,145 M sodyum klorür; pH 7,2).
- Santrifüjleyin.
- Otomatik karıştırıcı (Vortex tipi).
- Akış sitometresi.

PERFIX-NC REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

İç ve Dış Hücresel Boyama Hazırlığı (Ref B31167 veya B31168) için PerFix-nc Kiti ile (santrifüsüz test kiti) kullanılması tavsiye edilen prosedür aşağıda yer almaktadır.

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. IM2475).

KİT REAKTİF HAZIRLAMA

PerFix-nc Tampon 1 ve 2 Reaktifleri

Sulandırma gerekli değildir. Her iki reaktif de doğrudan flakondan kullanılabilir.

PerFix-nc Tamponu 3 Reaktifinin hazırlanması

Son 1X Reaktifini başka bir zamanda hazırlayın.

10X Konsantre PerFix-nc Tampon 3 (Son 10X Solüsyon) deiyonize suyla seyreltin: 1 hacim Tampon 3 ile 9 hacim su karıştırın. Kullanmadan önce iyice karıştırın. Sadece o günün deneyleri için gerekli Son 1X Reaktif hacmini hazırlamayı öneriyoruz.

- Kan örneğinden 50 µL miktarını her uygun şekilde etiketlenmiş tüpün altına pipetleyin. Tüpün yan tarafına kan koymaktan kaçının; aksi halde uygun şekilde muamele görmeyecektir.
- Düşük veya yüksek fiksasyon gerekliliğine bağlı olarak, her bir tüpe Fiksasyon Reaktifinden 5 or 25 µL pipetleyin (düşük/yüksek fiksasyon protokollerini hakkında ayrıntılar için PerFix-nc kullanma talimatlarına bakın).
- Hemen vortexleyin ve oda sıcaklığında (18 – 25°C) 15 dakika inkübe edin.
- Fiksasyon reaktifini tekrar vortexleyip her tüpe 300 µL Permeabilizan Reaktiften ekleyin; hemen vortexleyin.
- Her tüpe hemen 10 µL intraselüler epitoplardan ve yüzey moleküllerine karşı florokrom konjuge antikorlardan ekleyin (alternatif olarak antikorlar Permeabilizan Reaktifle önceden karıştırılmış fiksasyon adımlının sonunda birlikte eklenebilir).
- Hemen vortexleyin ve oda sıcaklığında 15 - 30 dk. inkübe edin.

7. Son 1X Reaktifinden (10X konsantrasyonundan hazırlanan) her tüpe 3 mL ekleyin; hemen vorteksleyin; örnek artık akış sitometresinde analiz için hazırdir.

NOT: Präparatlar sitometrik analiz öncesi 24 saatte kadar saklanabilir; bunları ışıktan korunmuş olarak 2-8°C'de saklamak önerilir.

INTRAPREP REAKTİFİ İLE PROSEDÜR

IntraPrep Fiksasyon/Permeabilizasyon reaktifi Ref. A07802 veya A07803 ile kullanılmak üzere aşağıda önerilen işlemi izleyin.

Analiz edilen her örnek için test tüpüne ek olarak, hücrelerin izotip kontrolü varlığında karıştırıldığı bir kontrol tüpü eklenebilir (Ref. IM2475).

Kan örneği için, optimal boyama 3 ile 10×10^3 hücre/ μL arasında lökosit sayısı kullanılarak elde edilir. Lökosit konsantrasyonu 10×10^3 hücre/ μL üzerindeyse seyreltin (11).

- Her bir tüpe, EDTA içine örneklenmiş 50 μL kan ekleyin.
- Her tüpe 100 μL IntraPrep reaktif 1 (Fiksasyon) ekleyin.
- Tüp 3 ila 5 saniye boyunca kuvvetlice vorteksleyin.
- Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15 dakika boyunca inkübe edin.
- Her tüpe 4 mL PBS ekleyin.
- Oda sıcaklığında 5 dakika 300 x g hızda santrifüjleyin. Aspirasyon ile üst fazı alın.
- Her tüpe 100 μL IntraPrep reaktif 2 (Permeabilizasyon) ekleyin. Difüzyonla karıştırılsın. VORTEKSLEMEYİN.
- Sallamadan oda sıcaklığında 5 dakika boyunca inkübe edin.
- Tüp 2 ila 3 saniye boyunca dikkatlice ve elle sallayın.
- Her test tüpüne 10 μL spesifik IOTest konjuge antikor ve gerekirse, her kontrol tüpüne, 10 μL izotip kontrolü ekleyin.
- Oda sıcaklığında (18-25°C) ışıktan koruyarak 15-20 dakika boyunca inkübe edin.
- 4 mL PBS ekleyin ve oda sıcaklığında 5 dakika 300 x g hızda santrifüjleyin.
- Üst fazı aspirasyonla giderin ve hücre peletini çalışma konsantrasyonunda (1X) 0,5 ile 1 mL IOTest 3 Fiksatif Çözelti (Ref. A07800) içinde yeniden süspansedir.
- Preparatlar sitometrik analiz için hazırdir.

NOT: Präparatlar sitometrik analizden önce 2 saatte daha uzun süre saklanacaksa, 2-8°C'de ışıktan korunarak saklanmaları tavsiye edilir. Ancak bu şekilde saklanan preparatlar 24 saatte daha uzun süre saklanmamalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Laboratuvarlarında, yukarıda açıklanan reaktif kullanılarak sağlıklı görünen 25 donorün tam kan örnekleri işlenmiştir. Bu reaktif ile ilgili konusu pozitif olayların sayısı için elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir:

PerFix-nc Parçalama Sistemi:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep Parçalama Sistemi:

Pozitif Hedef	Sayı	Ortalama (%)	SS	VK (%)
Lenfositler	25	10,02	4,03	40,19

Bu değerlerin sadece temsili olması amaçlanmaktadır. Her laboratuvar normal donorlerden oluşan yerel popülasyonunda kendi beklenen değerlerini oluşturmalıdır.

PERFORMANS

Performans verileri, antikoagulan olarak EDTA tuzu içeren steril tüplerde daha önce toplanan, 24 saatte eski olmayan kan örnekleri üzerinde yukarıdaki prosedür kullanılarak elde edilmiştir. İmmün boyamayı takiben 2 saat içinde analiz gerçekleştirtilir.

ÖZGÜLLÜK

CD79a molekülü, B hücre reseptörleri (BCR) oluşturmak üzere yüzey immünoglobulinlerine non-kovalent bağlarla bağlanan, CD79a / CD79b disulfid-bağılı heterodimerin bir parçasıdır (12). CD79a ekspresyonu B hücrelerin gelişim sürecinde erken dönemde gerçekleşir; dolayısıyla pro-B evresinde lokalizasyonu sitoplazmadır. Daha sonra, CD79a BCR'nin bir parçasını oluşturur. Membran ekspresyonu plazmositik evreye kadar devam eder; bu evrede lokalizasyonu tekrar sitoplazmik hale gelir (13).

MAb HM47, CD79a molekülünün bir intrasitoplazmik epitopuya reaksiyona girer (13). 1993'de Boston, A.B.D.'de yapılan 5. HLDA (Human Leucocyte Differentiation Antigens) Workshopunda CD79a'ya atanmıştır (WS Kodu: cB017, Bölüm B) (13).

KESİNLİK

Yüzde pozitif değerler, Tam Kan kullanılarak belirlenmiştir. Her örnek, 2 lot CD79a-APC Monoklonal Antikor Reaktifleri kullanılarak 2 cihazda 1 gün için günde iki kez olmak üzere 4 kez çalışılmıştır. Ölçümler (% pozitif) Navios akış sitometresi üzerinde yapılmıştır. Analiz, CLSI yöntemi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kantitatif Ölçüm Yöntemlerinin Kesinlik Performansına İlişkin Değerlendirme) temelinde yürütülmüştür.

Kabul kriterimiz, her popülasyon için ölçülen pozitif olay sayısına bağlıdır:

- Pozitif olay <1.500, VK <%15 ise
- Pozitif olay >1.500, VK <%10 ise

PerFix-nc Parçalama Sistemi:

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=1026							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep Parçalama Sistemi:

Lenfositler							
Pozitif olay sayısı (Ortalama)=880							
	Kullanıcılar arası	Sitometreler arası	Lot içi	Lotlar arası	Çalışmalar arası	Çalışma içi	Total
VK (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
SONUÇLAR	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

DOĞRULUK

CD79a-APC doğruluğu, bir Navios akış sitometresinde çalışılan tam kan örnekleri grubunda esas alınan referans reaktifle sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Test ve referans reaktif arasındaki sapma, test sonuçları arasındaki fark temelinde belirlenmiştir. Sapma, izin verilen hata aralığı dahilindeyse veya p değeri anlamlı fark göstermediğinde ($>0,05$), iki reaktif için test sonuçlarının eşdeğer olduğu kabul edilir.

Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

PerFix-nc Parçalama Sistemi:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep Parçalama Sistemi:

Donör sayısı=25				
Pozitif Hedef	Ortalama Δ	Δ % Hücre kriteri	p değeri	SONUÇLAR
Lenfositler	0,09	<3	0,659	PASS

KÖR LİMİTİ VE TESPİT LİMİTİ

CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Klinik Laboratuvar Ölçüm Prosedürleri için Tespit Kapasitesinin Değerlendirilmesi) ile uyumlu bir çalışma gerçekleştirılmıştır. Tespit Limiti (LOD), tutarlı olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

PerFix-nc Parçalama Sistemi:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/ μ L)	Tespit Limiti (hücre/ μ L)
Lenfositler	0	4

IntraPrep Parçalama Sistemi:

Positive Target	Kör Limiti (hücre/ μ L)	Tespit Limiti (hücre/ μ L)
Lenfositler	1	2

SINIRLAMALAR

1. Akış sitometrisi, sitometre mükemmel şekilde hizalanmadıysa, floresan sızıntıları doğru şekilde telafi edilmediye ve bölgeler dikkatli bir şekilde konumlandırılmadıysa yanlış sonuçlar üretebilir.
2. Kullanılan prosedürler teknik bilgi broşürüne uygun olduğu ve iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olduğu sürece doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilecektir.
3. Bu reaktifin konjugat antikoru, en iyi spesifik sinyal/spesifik olmayan sinyal oranını sunacak şekilde kalibre edilir. Bu nedenle her teste reaktif hacmi/ornek hacmi oranına bağlı kalmak önemlidir.
4. Hiprelökositoz durumunda yaklaşık 5×10^9 lökosit/L (11) değerini elde etmek için kanı PBS içinde seyreltin.
5. Şiddetli böbrek yetmezliği veya hemoglobinopatiler gibi bazı hastalık durumlarında, eritrosit lizisi yavaş, eksiks ve hatta imkansız olabilir. Bu durumda mononükleotidli hücrelerin boyama öncesinde yoğunluk gradyanı (örneğin Ficoll) kullanılarak izole edilmesi önerilmektedir (14).
6. Anti-insan monoklonal antikor terapisi ile tedavi edilen hastalarda, terapötik antikorun kısmi veya tam engellemesi nedeniyle spesifik hedeflenen抗原lerin tespiti azalabilir veya yapılmayabilir.
7. CD79a-APC sonuçları, semptomlar, klinik öykü, ilave testlerden elde edilen veriler ve diğer uygun bilgiler dahil olmak üzere hastanın genel klinik tablosu dikkate alınarak yorumlanmalıdır.

Örnekler ve referanslar için Ek'e bakın.

TİCARİ MARKALAR

Bu belgede belirtilen Beckman Coulter, stilize logo ve Beckman Coulter ürün ve hizmet markaları, Beckman Coulter, Inc. firmasının ABD'de ve diğer ülkelerdeki ticari veya tescilli ticari markalarıdır.

EK BİLGİLER

Avrupa Birliği'nde ve aynı düzenlemeye rejiminin olduğu ülkelerdeki (In Vitro Diagnostik Tıbbi Cihazlar hakkında 2017/746/EU sayılı Yönetmelik) hasta/kullanıcı/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında veya cihazın kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse lütfen olayı üreticiye ve/veya yetkili temsilcisi ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Summary of Safety and Performance (Güvenlik ve Performans Özeti) EUDAMED veritabanında mevcuttur: ec.europa.eu/tools/eudamed.

REVİZYON GEÇMİŞİ

REVİZYON AC:	Yayınlanma tarihi: Ekim 2019
REVİZYON	Yayın Tarihi
AW	Şubat 2022
Beckman Coulter Global Etiketleme Politikasıyla uyumluluk sağlamak için ve IVD-R (AB)2017/746 gerekliliklerine göre güncellemler yapıldı:	
Bölümler eklendi	BSI 2797 Numarası, Hedef Kullanıcı, Klinik Anlam, Konsantrasyon, Kesinlik, Doğruluk, Kör limiti ve tespit limiti, Ek Bilgiler, Revizyon Geçmişi.
Bilgi eklendi	Sınırlamalar bölümlerine bakın
İfade veya yazım güncellemeleri	Prosedür, Performans, Sınırlamalar, Uyarılar ve Önlemler, Saklama ve Stabilite bölümlerine bakın.
Bölümler kaldırıldı	Klinik uygulama örneği, Reaktifler, Laboratuvar içi yeniden üretilenlik, Linearite
Güncellenmiş bölümler	Kullanım Amacı, GHS Tehlike Sınıflandırması, Bozulma Göstergesi, Prosedür, Ek.
REVİZYON	Yayın Tarihi
AX	
Güncellenmiş bölümler	Kazakça ekle
Güncellenmiş bölümler	Saklama ve stabilité

Sembol Anahtarı

Semboller Sözlüğü beckman.com/techdocs adresinde bulunabilir (belge numarası B60062)

	Спецификации
Специфичность	CD79a
Клон	HM47
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Иммуноглобулин	IgG1
Вид	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография
Флуорохром	Allophycocyanin (APC)
Молярное отношение	APC / Ig: 0,5 - 1,5
Возбуждение λ	633/638 nm
Пик эмиссии	660 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 мг/мл БСА и 0,1% NaN ₃

Конъюгированное антитело IOTest CD79a-APC

REF B36287 100 определений; 1 мл, 10 мкл / test

Применяется для *In Vitro* диагностики.

НАЗНАЧЕНИЕ

Это конъюгированное с флуорохромом антитело позволяет с использованием проточной цитометрии выполнить качественное и не автоматизированное определение клеточных популяций, экспрессирующих антиген CD79a, который присутствует в биологических пробах человека (см. раздел «Пробы» ниже).

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Данный тест основан на способности специфических моноклональных антител связывать антигенные детерминанты, экспрессированные лейкоцитами.

Проницаемость вызывается в цитоплазматических мембрanaх лейкоцитов для демонстрации внутриклеточных антигенных детерминантов с помощью моноклональных флуоресцентных антител. После этого лейкоциты анализируются с помощью проточной цитометрии.

Проточный цитометр измеряет светорассеяние и флуоресценцию клеток. Это дает возможность разграничения интересующей популяции в электронном окне, определенном на гистограмме, что коррелирует с ортогональным светорассеянием (боковое рассеяние, или SS) и рассеянием света под острым углом (прямое рассеяние, или FS). Другие гистограммы, сочетающие два из других параметров, доступных на цитометре, могут использоваться как вспомогательные на стадии селекции, в зависимости от приложения, выбранного пользователем.

Флуоресценцию разграниченных клеток анализируют с целью различия положительно-окрашенных и неокрашенных событий. Результаты выражаются в виде процентного отношения положительных событий ко всем событиям, полученным в ходе селекции.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Изделие предназначено для использования в лаборатории персоналом с профессиональной подготовкой.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD79a-APC представляет собой антитело к CD79a, используемое для идентификации и определения характеристик клеток, экспрессирующих антиген CD79a, методом проточной цитометрии. Этот продукт отдельно от других исследований не может приводить к принятию каких-либо диагностических решений и не предназначен для этого.

При использовании в сочетании с другими маркерами этот продукт может использоваться в следующих целях.

- Для использования при дифференциальной диагностике пациентов с отклонениями гематологических результатов (при подозрении на наличие гематопоэтических новообразований), а также для мониторинга пациентов с известным гематопоэтическим новообразованием.

См. следующие ссылки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБЫ

При взятии образца венозной крови необходимо использовать стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагуланта.

Пробы следует хранить при комнатной температуре (18–25°C), не встряхивая. Пробы следует гомогенизировать, осторожно перемешав, до отбора тестовой пробы.

Пробы требуется проанализировать в течение 24 ч после венипункции.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

См. специфический для партии сертификат анализа на веб-сайте www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не используйте реагенты после истечения срока годности.
2. Не замораживать.
3. Перед использованием довести до комнатной температуры (18–25°C).
4. Минимизируют воздействие света.
5. Во избежание получения ошибочных результатов не допускайте микробной контаминации реагентов.

6. Следует с осторожностью обращаться с растворами антител, содержащими натрия азид (NaN_3). Не принимайте внутрь и избегайте любого контакта с кожей, слизистыми оболочками и глазами.
Кроме того, в кислой среде натрия азид может образовывать потенциально опасную азотистоводородную кислоту. Если требуется утилизация, рекомендуется разводить реагент в большом объеме воды, прежде чем выливать его в канализацию, чтобы избежать накопления натрия азида в металлических трубах и исключить возможность взрыва.
7. Все пробы крови должны считаться потенциально инфицированными, при обращении с ними необходимо соблюдать осторожность (в частности, использовать защитные перчатки, одежду и очки).
8. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте любого контакта проб с кожей, слизистыми и глазами.
9. При утилизации пробирок и одноразовых материалов следует использовать специальные предназначенные для сжигания контейнеры.
10. При утилизации реагентов и отходов необходимо следовать требованиям местного законодательства.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество



Паспорт безопасности доступен на сайте beckman.com/techdocs

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент требуется хранить при температуре от 2 до 8°C, защищая от света, до и после вскрытия флакона.

Срок хранения закрытого флакона согласно исследованию стабильности: 730 день.

Стабильность в открытом флаконе: реагент сохраняет стабильность в течение 180 дн.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения внешнего вида реагентов могут говорить о порче, использовать такой реагент не следует.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем Beckman Coulter.

СОДЕРЖАНИЕ

Консервант с содержанием азида натрия может образовывать взрывоопасные соединения в металлической водопроводной арматуре. См. бюллетень Национального института по охране труда и промышленной гигиене (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Взрывоопасные азиды) (16.8.76). Чтобы избежать накопления азидных соединений, промывайте сливные трубы водой после сброса неразбавленного реагента. Утилизацию азида натрия следует проводить в соответствии с соответствующими местными нормами.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, КОТОРЫЕ НЕ ВХОДЯТ В НАБОР:

- Необходимые для взятия проб пробирки и материалы.
- Автоматические пипетки с одноразовыми наконечниками для 10, 100 и 500 мкл.
- Пластиковые пробирки для гемолиза.
- Для получения оптимальных результатов рекомендуются следующие реагенты (соблюдайте соответствующую специфичную процедуру).
Реагент для фиксации/пермеабилизации IntraPrep (№ A07802 или A07803).
Комплект PerFix-nc (no centrifuge assay kit) для подготовки к внутриклеточному и внеклеточному окрашиванию (№ B31167 или B31168).
Реагент для фиксации лейкоцитов. Например: IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) (ссылочный номер A07800).
Изотипический контроль -APC: Реагент IOTest (ссылочный номер IM2475).
Буфер (PBS: 0,01 M натрия фосфата; 0,145 M натрия хлорида; pH 7,2).
Центрифугируйте.
- Автоматическая мешалка (вортексная)
- Проточный цитометр.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ PERFIX-NC

Ниже приводится рекомендованная процедура для использования с набором PerFix-nc (набор для исследования без центрифугирования) для приготовления внутри- и внеклеточного окрашивания (Ref B31167 или B31168).

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер IM2475).

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА КОМПЛЕКТА

Буферные реагенты PerFix-nc 1 и 2

Разведение не требуется. Оба реагента можно использовать непосредственно из флакона.

Приготовление реагента PerFix-nc буферный раствор 3

Экстремально подготовьте финальный реагент 1X.

Разведите 10X концентрированный буферный PerFix-nc 3 (финальный раствор 10X) в дейонизированной воде: 1 объем буферного раствора 3 на 9 объемов воды. Хорошо смешайте перед использованием. Мы рекомендуем готовить только объем финального реагента 1X, необходимый для проведения экспериментов в течение одного дня.

1. Внесите пипеткой 50 мл пробы крови на дно каждой пробирки с соответствующей этикеткой. Не наносите кровь на боковые стенки пробирки; в противном случае она не будет обработана должным образом.

- Пипетируют 5 ог 25 мкл фиксирующего реагента в каждую пробирку, в зависимости от того, какая фиксация требуется: низкой или высокой степени (см. инструкцию по применению PerFix-nc, чтобы получить сведения о протоколах фиксации низкой/высокой степени).
- Немедленно перемешайте образцы в перемешивающем устройстве типа «Вортекс» и инкубируйте образцы в течение 15 минут при комнатной температуре (18 – 25°C).
- Еще раз перемешайте зафиксированную кровь и добавьте 300 мл пермеабилизирующего реагента в каждую пробирку; перемешайте немедленно.
- Немедленно добавьте в каждую пробирку 10 мл конъюгированных с флуорохромом антител против внутриклеточных эпитопов и поверхностных молекул (как вариант, антитела можно предварительно смешать в пермеабилизирующий реагент и добавить все вместе в конце шага фиксации).
- Немедленно перемешайте и инкубируйте на протяжении 15 - 30 минут при комнатной температуре.
- Добавьте 3 мл финального реагента 1X (приготовленного из 10X концентрированного финального раствора) к каждой пробирке; немедленно перемешайте; образец готов к анализу в проточном цитометре.

ПРИМЕЧАНИЕ: Препараты могут храниться дольше 24 часов до цитометрического анализа, при этом рекомендуется хранить их при температуре в 2 – 8°C в защищенном от света месте.

ПРОЦЕДУРА С РЕАГЕНТОМ INTRAPREP

Ниже описана рекомендуемая процедура для использования реагента для фиксации/пермеабилизации IntraPrep (№ A07802 или A07803).

Для каждой анализируемой пробы в дополнение к тестовой пробирке можно добавить одну контрольную пробирку, в которой клетки смешаны в присутствии изотипического контроля (ссылочный номер IM2475).

Оптимального окрашивания пробы крови можно достичь с помощью числа лейкоцитов от 3 до 10×10^3 клеток/мл. Если концентрация лейкоцитов выше 10×10^3 клеток/мл, разведите раствор (11).

- Добавляют 50 мкл взятой крови в ЭДТА в каждую пробирку.
- Добавьте в каждую пробирку 100 мл реагента IntraPrep 1 (фиксация).
- Тщательно перемешивают пробирки на вортексе в течение 3–5 секунд.
- Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15 мин, в защищенном от света месте.
- Добавляют 4 мл PBS в каждую пробирку.
- Центрифугируют в течение 5 минут при 300 г при комнатной температуре. Удаляют надосадочную жидкость путем аспирации.
- Добавляют в каждую пробирку по 100 мкл реагента IntraPrep 2 (Повышение проницаемости). Позволяют перемешаться путем диффузии. НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ НА ВОРТЕКСЕ.
- Инкубируют в течение 5 минут при комнатной температуре, не встряхивая.
- Осторожно вручную встряхивают пробирки в течение 2–3 секунд.
- В каждую тестовую пробирку добавьте по 10 мкл специфического конъюгированного антитела IOTest, а в каждую контрольную пробирку — по 10 мкл изотипического контроля, если необходимо.
- Инкубируют при комнатной температуре (18–25°C) в течение 15–20 мин, в защищенном от света месте.
- Добавляют 4 мл PBS и центрифугируют в течение 5 минут при 300 г при комнатной температуре.
- Удаляют надосадочную жидкость аспирацией и ресусPENDируют осадок клеток в 0,5–1 мл раствора для фиксации IOTest 3 (ссылочный номер A07800) в рабочей концентрации (1X).
- Исследуемые образцы готовы для цитометрического анализа.

ПРИМЕЧАНИЕ: Если препараты должны храниться более 2-х часов перед цитометрическим анализом рекомендуется хранить их при 2-8°C в защищенном от света месте. Не храните приготовленные таким образом препараты более 24 часов.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В наших лабораториях пробы цельной крови от клинически здоровых доноров (количество доноров: 25) были обработаны с использованием описанного выше реагента. Результаты, полученные для количества положительных интересующих явлений с этим реагентом, приводятся в таблице ниже:

Лизирующая система PerFix-nc:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	10,98	4,13	37,60

Лизирующая система IntraPrep:

Положительная мишень	Число	Среднее (%)	SD	CV (%)
Лимфоциты	25	10,02	4,03	40,19

Эти значения используются только в качестве примера. В каждой лаборатории должны быть установлены собственные диапазоны ожидаемых значений с учетом проб нормальных доноров из числа местного населения.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Рабочие характеристики получены с использованием описанной выше процедуры на пробах, собранных не ранее чем за 24 часа до анализа в стерильные пробирки с солью ЭДТА как антикоагулянтом. Анализ проводится в течение 2 часов после иммуноокрашивания.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Молекула CD79a является частью дисульфидносвязанного гетеродимера CD79a/CD79b, нековалентно прикрепленная к поверхности иммуноглобулинов для формирования рецепторов В-клеток (BCR) (12). Экспрессия CD79b имеет место на ранних стадиях В-клеточного онтогенеза, и таким образом цитоплазматическую локализацию на стадии про B. Позже CD79a формирует часть BCR. Мембранные экспрессии сохраняется вплоть до плазмоцитоидной стадии, на которой локализация вновь становится цитоплазматической (13).

Моноклональные антитела HM47 реагируют с внутрицитоплазматическим эпипотом молекулы CD79a (13). CD79a был присвоен им на 5-м совещании по антигенам дифференцировки человека, состоявшемся в 1993 году в Бостоне, США (WS Code: cB017, Section B) (13).

ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Процент положительных результатов был установлен с использованием цельной крови. Каждую пробу измеряли 4 раза, два раза в день в течение 1 дня на 2 приборах, с использованием 2 партий реагентов моноклональных антител CD79a-АРС. Измерения (% положительных) выполняли на проточном цитометре Navios. Анализ проводился на основе метода CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оценка прецизионности количественных методик измерения).

Наши критерии принятия зависят от количества положительных событий, измеренных для каждой популяции:

- Если положительных событий <1 500, CV <15%
- Если положительных событий >1 500, CV <10%

Лизирующая система PerFix-nc:

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 1026							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Междупартиями	Междудиагностиками	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Лизирующая система IntraPrep:

Лимфоциты							
Количество положительных событий (среднее) = 880							
	Между операторами	Между цитометрами	Внутри партии	Междупартиями	Междудиагностиками	Внутри анализа	Итого
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
РЕЗУЛЬТАТЫ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТЬ

Точность CD79a-АРС оценивалась путем сравнения результатов с результатами по референсному реагенту как предикатом. Анализ выполняли на проточном цитометре Navios с использованием набора проб цельной крови. Систематическая ошибка оценки между тестовым и референсным реагентами была определена на основании различий между результатами теста. Если систематическая ошибка оценки находится в пределах допустимого диапазона ошибки или если р-значение указывает на отсутствие значительного различия (>0,05), тогда результаты теста для двух реагентов рассматриваются как эквивалентные.

Полученные результаты обобщены в таблице далее.

Лизирующая система PerFix-nc:

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	р-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	0,32	<3	0,005	PASS

Лизирующая система IntraPrep:

Количество доноров = 25				
Положительная мишень	Среднее значение Δ	Критерии Δ % клеток	р-значение	РЕЗУЛЬТАТЫ
Лимфоциты	0,09	<3	0,659	PASS

ПРЕДЕЛ БЛАНКА И ПРЕДЕЛ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Исследование было проведено в соответствии с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Оценка способности обнаружения для методик измерения клинической лаборатории). Предел чувствительности (LOD) — наименьшая концентрация аналита, которая может последовательно обнаруживаться. Полученные результаты обобщены в таблице ниже.

Лизирующая система PerFix-nc:

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	0	4

Лизирующая система IntraPrep:

Positive Target	Предел бланка (клеток/мкл)	Предел чувствительности (клеток/мкл)
Лимфоциты	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

- При проведении проточной цитометрии возможно получение ложных результатов, если цитометр не был идеально позиционирован, не была проведена правильная компенсация утечек флуоресцентного агента или точное позиционирование областей.
- Для получения точных и повторяемых результатов необходимо выполнять процедуры в соответствии с инструкцией-вкладышем и требованиями надлежащей лабораторной практики.
- Выполняется калибровка коньюгированного антитела этого реагента с целью получения наилучшего для данной конкретной задачи соотношения специфичного и неспецифичного сигнала. Поэтому при каждом тесте важно придерживаться правильного соотношения объема реагента и пробы.
- При гиперлейкоцитозе, разбавляют кровь PBS до приблизительно 5×10^9 лейкоцитов/л (11).
- При определенных заболеваниях, таких как острая почечная недостаточность или гемоглобинопатия, лизис эритроцитов может протекать медленно, быть неполным или даже невозможным. В таком случае рекомендуется изолировать одноядерные клетки, используя градиент плотности (например, фиколл), перед окрашиванием (14).
- У пациентов, получавших лечение античеловеческими моноклональными антителами, обнаружение специфических целевых антител может быть снижено или может отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки терапевтическими антителами.
- Результаты CD79a-АРС должны интерпретироваться с учетом общих клинических проявлений пациента, включая симптомы, историю болезни, данные дополнительных тестирований и прочую информацию.

Примеры и ссылки см. в Приложении.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter, стилизованный логотип и упоминаемые здесь знаки продукции и услуг Beckman Coulter являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками корпорации Beckman Coulter, Inc. в Соединенных Штатах и других странах.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичным регуляторным режимом (Регламент 2017/746/EC в отношении медицинских изделий для *in vitro* диагностики); если, во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю и своему национальному органу регулирования.

Summary of Safety and Performance (Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам) доступны в Европейской базе данных изделий медицинского назначения (EUDAMED): ec.europa.eu/tools/eudamed.

СВЕДЕНИЯ О ВЕРСИЯХ

ВЕРСИЯ АС:	Дата выпуска: Октябрь 2019 г.
ВЕРСИЯ	Дата выпуска
AW	
Добавлены разделы	Номер BSI 2797, «Предполагаемый пользователь», «Клиническая значимость», «Концентрация», «Прецизионность», «Точность», «Предел бланка и предел чувствительности», «Дополнительная информация», «Сведения о версиях».
Добавлена информация	См. раздел «Ограничения»
Обновлены формулировки или исправлены опечатки	См. разделы «Процедура», «Эксплуатационные характеристики», «Ограничения», «Предупреждения и меры предосторожности», «Хранение и стабильность».
Удалены разделы	«Примеры клинических областей применения», «Реагенты», «Внутрилабораторная сходимость», «Линейность»
Обновленные разделы	«Назначение», «Классификация опасностей по системе СГС», «Признаки порчи», «Процедура», «Приложение».
ВЕРСИЯ	Дата выпуска
AX	
Обновленные разделы	Добавить казахский язык
Обновленные разделы	Хранение и стабильность

Определения символов

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (номер документа B60062)

	Spetsifikatsioonid
Spetsiifilus	CD79a
Kloon	HM47
Hübridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobuliin	IgG1
Liigid	Hiir
Puhastamine	Afiinsuskromatograafia
Fluorokroom	Allophyocyanin (APC)
Molaarsuhe	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ ergastumine	633/638 nm
Emission Peak	660 nm
Puhver	PBS pH 7,2 pluss 2 mg/ml BSA ja 0,1% NaN ₃

IOTest konjugeeritud antikeha CD79a-APC

[REF] B36287 100 analüüs; 1 ml, 10 µl / test

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks

KASUTUSOTSTARVE

See fluorokroomiga konjugeeritud antikeha võimaldab voolutsütomeetriaga kvalitatiivselt ja mitteautomatisseeritult tuvastada rakupopulatsioone, mis esitavad inimese bioloogilistes proovides antigeeni CD79a (vt allpool osa „Proovid“).

PÖHIMÖTE

Analüüs pöhineb spetsiifiliste monoklonaalsete antikehade võimel seonduda leukotsüütide sünteesitavate antigeensete determinantidega.

Leukotsüütide tsütoplasmiliste ja rakumembraanide läbilaskvus saadakse rakusiseste antigeensete determinantide demonstreerimiseks monoklonaalsete helendavate antikehade abil. Leukotsüütue analüüsikasse seejärel voolutsütomeetriaga.

Läbivoolutsütomeeter mõõtab valguse hajumist ja rakkude fluoresentsi. See muudab võimalikuks huvialuse populatsiooni piiristamise histogrammil määratud elektroonilisel alal. Histogramm korreleerib valguse ortogonaalset hajumist (külgajumine ehk KH) ja kitsasnurga valguse hajumist (edasihajumine ehk EH). Teisi histogramme, kus ühendatakse tsütomeetrias saadaolevat kahte parameetrit, võib kasutada lüüsimeetris olenevalt kasutaja valitud rakendusest.

Piiritletud rakkude fluoresentsi analüüsikasse, et eristada positiivselt värvitud sündmusi värvimata sündmustest. Tulemusi kajastatakse positiivsete sündmuste protsentuaalse osakaaluna kõigi värvdamisega hõivatud sündmuste suhtes.

SIHTKASUTAJA

See toode on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks.

KLIINILINE TÄHTSUS

CD79a-APC on CD79a antikeha, mida kasutatakse CD79a antigeeni sünteesivate rakkude voolutsütomeetriaga tuvastamiseks ja kirjeldamiseks. See toode üksi ei saa ega ole mõeldud ühegi diagnostilise otsuse tegemiseks.

Koos teiste markeritega kasutades saab seda toodet kasutada ühes või mitmes järgmistest funktsioonidest:

- Lihtsustamaks diferentsiaaldiagnoosi panemist hematoloogiliste ebanormaalsustega patsientidele, kellel kahtlustatakse vereloome neoplasmii esinemist, ja teadaleva vereloome neoplasmiga patsientide monitoorimiseks.

Vt järgmisi viiteid.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROOID

Veeniverd tuleb võtta steriilsete katsutitega, mis sisaldavad antikoagulandina etüleendiämintetraatsetaadi (EDTA) soola.

Proove tuleb hoida toatemperatuuril (18–25 °C) ja neid ei tohi raputada. Proove tuleb ühtlustada seda enne näidisproovi võtmist ettevaatlikult loksutades.

Proove tuleb analüüsida 24 tunni jooksul alates veenipunktsioonist.

KONTSENTRATSIOON

Vt partiispetsiifilist analüüsist sertifikaati veebilehelt www.beckman.com.

HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÖUD

- Ärge kasutage reagenti pärast aegumiskuupäeva.
- Ärge külmutage.
- Enne kasutamist laske tasakaalustuda toatemperatuuriga (18–25 °C).
- Minimeerige kokkupuudet valgusega.
- Vältige reagentide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võite saada valed tulemused.
- Antikehade lahuseid, mis sisaldavad naatriumasiidi (NaN₃), tuleb käsitseda ettevaatlikult. See pole mõeldud seepidiseks kasutamiseks. Vältige kokkupuudet naha, limaskesta ja silmadega.

Lisaks võib naatriumasiid moodustada hoppelises keskkonnas potentsiaalselt ohtliku hüdrasoonhappe. Kui see tuleb kõrvaldada, on soovitatav lahjendada reagenti suure hulga veega, enne kui see ärvoolusüsteemi valada, et vältida plahvatusohtu ja naatriumasiidi kogunemist metallitorudesse.

7. Kõiki vereproove tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käitseda ettevaatusega (kasutage kaitsekindaid, kitlit ning kaitseprille).
8. Ärge kunagi pipettige suuga ja vältige proovide kokkupuudet nahal, limaskest ja silmadega.
9. Verekatsutid ja käitlemiseks kasutatav ühekordsest kasutatav materjal tuleb hävitada pöletamiseks ettenähtud spetsiaalsetes konteinerites.
10. Reagendid ja jäätmed tuleb kõrvaldada vastavalt kohalikele nõuetele.

GHS-I OHUKLASSIFIKATSIOON

Ei ole klassifitseeritud ohtlikuks



Ohutuskaart on kättesaadav veebilehel beckman.com/techdocs

ŠÄILITAMINE JA STABIILSUS

Seda reagenti tuleb enne ja pärast viaali avamist hoida temperatuuril 2–8 °C ning valguse eest kaitstult.

Suletud viaali säilivusaeg stabiilsusuuringu põhjal: 730 päeva.

Avatud viaali stabiilsus: reagent on stabiiline 180 päeva.

RIKNEMISE TUNNUSED

Igasugune muutus reagentide füüsilises välimuses võib viidata reagendi riknemisele ja seda ei tohi kasutada.

Lisateabe hankimiseks või kahjustatud toote saamisel helistage Beckman Coulteri klienditeenindusse numbril 800-742-2345 (USA või Kanada) või võtke ühendust kohaliku Beckman Coulteri esindajaga.

SISU

Naatriumasiidist konservant võib moodustada metallist kanalisatsioonitorudes plahvatusohtlike ühendeid. Vt asutuse NIOSH teadaannet. Explosive Azide Hazard (Plahvatusohtliku asiidi oht) (16.8.76).

Vältimaks võimalikku asiidiühendite akumuleerimist, loputage ärvoolutorusid pärast lahjendamata reagendi kõrvaldamist. Naatriumasiidi kõrvaldamine peab olema kooskõlas asjakohaste kohalike eeskirjadega.

VAJALIKUD, KUID KOMPLEKTI MITTEKUULUVAD MATERJALID

- Proovide kogumiseks vajalikud proovivõtukatsutid ja vahendid.
- Automaatpipetid ühekordsest kasutatavate otsakutega, mis võimaldavad teisaldada 10, 100 ja 500 µl.
- Plastist hemolüüs katsutid.
- Optimaalse tulemuste saamiseks on soovitatav kasutada üht järgmistest reagentidest (järgige vastavat spetsiifilist protseduuri). IntraPrep fikseerimis-/läbilaskvusreagent (viide A07802 või A07803). PerFix-nc komplekt (no centrifuge assay kit) rakusise ja -välise värvimise ettevalmistamiseks (viide B31167 või B31168).
- Leukotsütide fikseerimisreagent. Näide Tootesarja IOTest 3 fikseerimisreagent (viitenr A07800).
- Isotübi kontrollAPC: Tootesarja IOTest reagent (viitenr IM2475).
- Puhver (PBS: 0,01 M naatriumfosfaat; 0,145 M naatriumkloriid; pH 7,2).
- Tsentrifugile.
- Automaatsegisti (vibratsioonsegamise tüüpil).
- Voolutsütmomeeter.

PROTSEDUUR REAGENDIGA PERFIX-NC

All on toodud soovitatav protseduur, mida kasutada PerFix-nc komplektiga (ilma tsentrifugimiseta analüüsikomplekt) intra- ja ekstratsellulaarse värvimise ettevalmistamiseks (viide B31167 või B31168).

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotübi kontrolliga (viitenr IM2475).

REAGENDIKOMPLEKTI ETTEVALMISTAMINE

PerFix-nc puhver 1 ja 2 reagenti

Uuesti pole vaja valmistada. Mõlemat reaktiivi saab kasutada otse viaalist.

PerFix-nc puhver 3 reaktiivi ettevalmistamiseks

Valmistage ette Final 1X-i reagent.

Lahjendage 10-kordsest kontsentreeritud PerFix-nc puhver 3 (Final 10X lahust) deioniseeritud veeks: 1 osa puhver 3 ja 9 osa vett. Enne kasutamist segage korralikult. Soovitarne ette valmistada ainult nii palju Final 1X-i reagenti, kui on vaja päeva jooksul tehtavate katsete jaoks.

1. Pipeteerige 50 µl vereproovi iga vastavalt märgistatud katsuti põhja. Vältige vere sattumist katsuti külgedele, muidu ei töödelda seda öigesti.
2. Pipeteerige 5 or 25 µl fikseerimise reagenti igasse katsutisse söltuvalt sellest, kas soovitakse madalat või kõrget fikseerimisastet (vt PerFix-nc kasutusjuhistest madala/kõrge fikseerimisastme protokolli üksikasjus).
3. Loksutage kohe ja inkubeerige 15 minutiks toatemperatuuril (18 – 25 °C).
4. Keerutage fikseeritud verd uesti ja lisage 300 µl läbilaskvusreagenti igasse katsutisse; keerutage kohe.
5. Lisage kohe igasse katsutisse 10 µl fluorokroomiga konjugeeritud antiukeha rakusiseste epitoopide ja pinnamolekulide vastu (teine võimalus on antiukeha eelnevalt segada läbilaskvusreagendiga ja lisada need koos fikseerimise lõpus).
6. Keerutage kohe ja inkubeerige 15 - 30 minutit toatemperatuuril.

7. Lisage igasse katsutisse 3 ml Final 1X reagenti (valmistatud 10-korde kontsentratsiooniga lõpplahusest); keerutage kohe; proov on nüüd voolutsüomeetriga analüüsimeiseks valmis.

MÄRKUS. Preparaate võib säilitada enne tsütomeetelist analüysi kuni 24 tundi. Sellisel juhul on soovitatav neid säilitada temperatuuril 2–8 °C ja eemal valgusest.

PROTSEDUUR INTRAPREPI REAGENDIGA

All on toodud soovituslik protseduur, mida kasutada IntraPrepi fikseerimis-/läbilaskvusreagendiga (viide A07802 või A07803).

Iga analüüsitud proovi kohta võib lisaks analüüsikatsutile lisada ühe kontrollkatsuti, milles rakud segatakse isotüübi kontrolliga (viitenr IM2475).

Veraproovi puhul saavutatakse optimaalne värvimine mitme leukotsüüdi kasutamisel (vahemikus 3 kuni 10×10^3 rakk/μl). Kui leukotsüütide kontsentratsioon on suurem kui 10×10^3 rakk/μl, lahjendage seda (11).

1. Lisage mölemasse katsutisse 50 μl EDTA-sse kogutud vereproovi.
2. Lisage kumbagi katsutisse 100 μl IntraPrep reagent 1 (fikseerimisreagent).
3. Vibratsioonsegage katsuteid jõulised 3 kuni 5 sekundit.
4. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
5. Lisage kumbagi katsutisse 4 ml PBS-i.
6. Tsentrifugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 300 x g. Eemaldage aspiratsiooniga pealislahu.
7. Lisage igasse katsutisse 100 μl IntraPrepi reagenti 2 (permeabiliseerimisreagenti). Laske difusiooniga seguneda. ÄRGE VIBRATSIOONSEGAGE.
8. Inkubeerige valguse eest kaitstult 5 minutit toatemperatuuril ilma raputamata.
9. Raputage katsuteid õrnalt ja käsitsi 2 kuni 3 sekundit.
10. Lisage igasse analüüsikatsutisse 10 μl spetsiifilist tootesarja IOTest konjugeeritud antikeha ja vajaduse korral igasse kontrollkatsutisse 10 μl isotüüpset kontrolli.
11. Inkubeerige valguse eest kaitstult 15–20 minutit toatemperatuuril (18–25 °C).
12. Lisage 4 ml PBS-i ja tsentrifugige 5 minutit toatemperatuuril kasutades sätet 300 x g.
13. Eemaldage supernatant aspireerimise teel ja suspendeerige rakugraanulit uuesti 0,5 kuni 1 ml fikseerivas lahuses IOTest 3 (Ref. A07800) selle töökontsentratsioonis (1X).
14. Valmistised on tsütomeetrliseks analüüsiks valmis.

MÄRKUS. Kui paralaate säilitatakse enne tsütomeetelist analüysi kauem kui 2 tundi, on soovitatav neid säilitada temperatuuril 2–8 °C ja eemal valgusest. Niimoodi säilitatud paralaadid ei säili aga kauem kui 24 tundi.

OODATUD VÄÄRTUSED

Ettevõttesisestes laborites töödeldi ülalkirjeldatud reagendiga täisvere proove, mis koguti 25 tõenäoliselt tervelt doonoritelt. Alljärgnev tabel annab ülevaate selle reagendiga saadud positiivsete huvipakkuvate sündmuste loendustulemustest:

PerFix-nc lüüsmissüsteem:

Positiivne siht	Arv	Keskmene (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrepi lüüsmissüsteem:

Positiivne siht	Arv	Keskmene (%)	SH	CV (%)
Lümfotsüüdid	25	10,02	4,03	40,19

Need väärused on mõeldud üksnes näitlikena. Iga laboratoorium peaks kindlaks määrama oma oodatavad vahemikud kohaliku tavapärase doonorite populatsiooni alusel.

TOIMIMINE

Toimimisandmed saadakse kasutades ülalkirjeldatud protseduuri vähem kui 24 tundi vanadel antikoagulandi EDTA naatriumsoolaga steriilsetesse katsutitesse kogutud vereproovid. Analüüs tehakse 2 tunni jooksul pärast immuunovärvimist.

SPETSIIFILISUS

CD79a molekul on osa CD79a/CD79b disulfiidiga seotud heterodimeerist, mis on mittekoivalentelt seotud pinnaimmunoglobuliinidega, et luua B-raku retseptoreid (BCR) (12). CD79a ilmneb B-raku ontogeneesi varajases staadiumis ja selle asukoha määramine pro-B staadiumis on seega tsütoplasmiline. Hiljem moodustab CD79a osa BCR-ist. Selle membraani väljendus püsib kuni plasmotsütilise staadiumini, kus selle asukoha määramine on jälle tsütoplasmiline (13).

MAb HM47 reageerib CD79a molekuli intratsütoplasmilise epitoobiga (13). See määritati CD79a-le viiendal HLDA seminaril 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens, inimeste leukotsüütide eristamisantigenide teemal, mis peeti 1993. aastal USA-s Bostonis (WS-kood: cB017, jaotis B) (13).

TÄPSUS

Positiivsete vääruste protsent määratati täisverest. Igat proovi testiti 4 korda, kaks korda päevas, 1 päeva jooksul 2 instrumendi, kasutades 2 CD79a-APC monokloonaalse reagentide partiid. Mõõtmised (% positiivne) tehti Naviosi voolutsüomeetriaga. Analüüsiti CLSI meetodi EP5-A2 põhjal. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatiivsete mõõtmismeetodite täpsuse näitajate hindamine).

Meie sobivuskriteeriumid sõltuvad iga populatsiooni kohta mõõdetud positiivsete sündmuste arvust:

- Positiivse sündmuse korral < 1500 , CV $< 15\%$
- Positiivse sündmuse korral > 1500 , CV $< 10\%$

PerFix-nc lüüsmissüsteem:

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 1026							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
TELEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrepi lüüsmissüsteem:

Lümfotsüüdid							
Positiivsete sündmuste arv (keskmine) = 880							
	Kasutajatevaheline	Tsütomeetritevaheline	Partiisisene	Partiidevaheline	Testidevaheline	Testisisene	Kokku
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
TELEMUSED	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

MÕÖTETÄPSUS

CD79a-APC mõõtetäpsust hinnati vörreldes tulemusi võrdlusreagendiga kui predikaadiga täisverereproovide komplektis, mida oli testitud Naviosi voolutsütoomeetriaga. Analüüs- ja võrdlusreagendi erinevused määratleti analüüsitemustesse erinevuse põhjal. Kui erisus jäab lubatud veavahemikku või kui p-väärtus ei näita statistiliselt olulist erinevust ($> 0,05$), loetakse kahe reagendi analüüsitemused võrdväärseteks.

Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis.

PerFix-nc lüüsmissüsteem:

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	$\Delta\%$ raku kriteeriumid	p-väärtus	TELEMUSED
Lümfotsüüdid	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrepi lüüsmissüsteem:

Doonorite arv = 25				
Positiivne siht	Keskmine Δ	$\Delta\%$ raku kriteeriumid	p-väärtus	TELEMUSED
Lümfotsüüdid	0,09	<3	0,659	PASS

NULLPIIR JA TUVASTUSPIIR

Urutti vastavalt CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliinilise labori mõõtmisprotseduuride avastamisvõime hindamise) nõuetele. Tuvastuspiir (LOD) on väikseim analüüdi kontsentratsioon, mida saab järjekindlalt määrata. Saadud tulemused on kokku võetud järgmises tabelis:

PerFix-nc lüüsmissüsteem:

Positive Target	Nullpiir (rakku/ μ l)	Tuvastuspiir (rakku/ μ l)
Lümfotsüüdid	0	4

IntraPrepi lüüsmissüsteem:

Positive Target	Nullpiir (rakku/ μ l)	Tuvastuspiir (rakku/ μ l)
Lümfotsüüdid	1	2

PIIRANGUD

- Voolutsütoometria võib anda valed tulemused, kui tsütomeeter ei ole ideaalselt joondatud, kui fluoresentsi lekkeid ei ole õigesti komponeeritud ja kui piirkonnad ei ole hoolikalt paigutatud.
- Täpsed ja korratavad tulemused saadakse, kui kasutatavad protseduurid on kooskõlas tehniline teabelehe ja heade laboritavadega.
- Selle reagendi pööratud antikeha kalibreeritakse nii, et tagatud oleks parim spetsiifilise/mittepetsiifilise signaali suhe. Seetõttu on igas analüüs oluline järgida reagendi- ja proovimahu suhet.
- Hüperleukotsüoosi korral lahjendage verd PBS-is nii, et saadav väärthus oleks ligikaudu 5×10^9 leukotsüüti/l kohta (11).
- Teatud haigusseisundite (näiteks raske neerupuudulikkuse või hemoglobinopaatia) korral võib erütrotsüütide lüüsime olla aeglane, mittetäielik või isegi võimatu. Sellisel juhul on enne värvimist soovitatav mononukleaarsete rakkude isoleerimine tihedusgradiendi (näiteks Ficoll-gradiendi) abil (14).
- Inimesevastaste monoklonalsete antikehadega ravitud patsientidel võib spetsiifiliste antigenide tuvastamise võime väheneda või puududa, sest need on terapeutilistile antikehade poolt osaliselt või täielikult blokeeritud.
- CD79a-APC tulemuste tölgendamisel tuleb arrestada patsiendi terviklikku kliinilist pilti, sh sümpтомeid, kliinilist anamneesi, lisaanalüüside andmeid ja muud asjakohast teavet.

Vt näiteid ja viiteid lisast.

KAUBAMÄRGID

Beckman Coulter, stiliseeritud logo ning selles juhendis nimetatud ettevõtte Beckman Coulter toote- ja teenusemärgid on ettevõtte Beckman Coulter, Inc. kaubamärgid või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja teistes riikides.

LISATEAVE

Patsiendile / kasutajale / muule osapoolle Euroopa Liidus ja identse regulatsioonirežiimiga riikides (määrus (EL) nr 2017/746 in vitro diagnostikameditsiiniseadmete kohta), kui selle seadme kasutamise ajal või selle kasutamise tagajärel on toimunud tõsine vahejuhtum, teatage sellest tootjale ja/või tema volitatud esindajale ning teie riiklikele pädevale asutusele.

VERSIKOONI AJALUGU

REDAKTSIOON AC:	Avaldamise kuupäev: oktoober 2019
REDAKTSIOON	Väljaandmisse kuupäev
AW	Veebruar 2022
Värskendused, mis vastavad Beckman Coulteri ülemaailmse märgistamise poliitikale ja IVD-R (EL) 2017/746 nõuetele:	
Lisatud osad	BSI 2797 number, sihtkasutaja, kliiniline tähtsus, kontsentratsioon, täpsus, mõõtetäpsus, nullpiir ja tuvastuspür, lisateave, versiooni ajalugu.
Lisatud informatsioon	Vaata osa „Piirangud“
Fraseerimine või tüpopagraafiline värskendamine	Vaata osasid Protseduur, Toimimine, Piirangud, Hoiatus ja ettevaatusabinõud, Säilitamine ja stabiilsus.
Eemaldatud osad	Kasutusotstarvete, reagentide, laborisisesse korratavuse, lineaarsuse näited
Uuendatud jaotised	Kasutusotstarve, GHS-i ohuklassifikatsioon, Riknemise tunnused, Protseduur, Lisa.
REDAKTSIOON	Väljaandmisse kuupäev
AX	
Uuendatud jaotised	Lisada kasahhi keel
Uuendatud jaotised	Säilitamine ja stabiilsus

Sümboli tähis

Sümbolite mõisted on kättesaadavad veebilehel beckman.com/techdocs (dokument nr B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD79a
Klon	HM47
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Pročišćavanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Allophycocyanin (APC)
Molarni omjer	APC / Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	633/638 nm
Vršna emisija	660 nm
Pufer	PBS pH 7,2 uz 2 mg/mL BSA i 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugirano antitijelo

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testiranja; 1 mL, 10 µL / test

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

NAMJENA

To fluorokromom konjugirano antitijelo omogućuje kvalitativno i neautomatizirano prepoznavanje populacija stanica koje eksprimiraju antigen CD79a prisutan u humanim biološkim uzorcima uz pomoć protočne citometrije (pogledajte odjeljak „Uzorci“ u nastavku).

NAČELO

Ovaj je test utemeljen na mogućnosti vezivanja specifičnih monoklonskih antitijela na antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Propusnost je uključena u citoplazmičkim membranama leukocita za demonstraciju unutarstaničnih antigenih determinanata tj. monoklonalnih fluorescentnih protutijela. Leukociti se potom analiziraju protočnom citometrijom.

Citometar toka mjeri difuziju svjetlosti i fluorescenciju stanica. Omogućuje razgraničavanje promatrane populacije unutar elektroničkog prozora definiranog na histogramu, koji stvara korelaciju između ortogonalne difuzije svjetlosti (bočnog raspršenja (BR)) i difuzije uskokutne svjetlosti (prednjeg raspršenja (PR)). Drugi histogrami koji kombiniraju dva od više različitih parametara dostupnih na citometru mogu se upotrebljavati kao pomoć u fazi ogradijanja ovisno o primjeni koju je odabrao korisnik.

Analizira se fluorescencija ograničenih stanica da bi se pozitivno obojeni događaji odvojili od neobojenih. Rezultati se izražavaju kao postotak pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobivene ogradijanjem.

PREDVIĐENI KORISNIK

Proizvod je namijenjen za profesionalnu laboratorijsku uporabu.

KLINIČKA RELEVANTNOST

CD79a-APC antitijelo je na CD79a koje se koristi za prepoznavanje i karakteriziranje stanica koje eksprimiraju antigen CD79a protočnom citometrijom. Ovaj proizvod samostalno ne može generirati nikakav dijagnostički zaključak niti je tome namijenjen.

Kada se upotrebljava u kombinaciji s drugim markerima, ovaj se proizvod može upotrebljavati u jednoj ili više sljedećih funkcija:

- Kao pomoć prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze u hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu te za praćenje pacijenata s poznatom hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sljedeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Venska krv mora se uzeti sterilnim epruvetama koje kao antikoagulans sadrže EDTA sol.

Uzorke držite na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) i nemojte ih tresti. Prije uzimanja testnog uzorka potrebno je homogenizirati uzorce pažljivim mučkanjem.

Uzorci venske krvi moraju se analizirati u roku od 24 sata od njihova uzimanja.

KONCENTRACIJA

Na web-mjestu www.beckman.com pogledajte Certifikat o analizi specifičan za lot koji upotrebljavate.

UPOZORENJE I MJERE OPREZA

1. Reagens nemojte upotrebljavati nakon isteka roka trajanja.
2. Nemojte zamrzavati.
3. Prije upotrebe pustite da dosegne sobnu temperaturu (18 – 25 °C).
4. Smanjite izlaganje svjetlu.
5. Izbjegavajte mikrobnu kontaminaciju reagensa ili može doći do netočnih rezultata.
6. Otopinama antitijela koje sadrže natrijev azid (NaN₃) potrebno je rukovati oprezno. Ne gutajte i izbjegavajte dodir s kožom, sluznicom i očima.

Štoviše, natrijev azid u kiselim mediju može formirati potencijalno opasnu hidrazoičnu kiselinu. Ako je reagens potrebno odložiti u otpad, preporučuje se da ga razrijedite u velikoj količini vode prije nego što ga izlijete u odvodni sustav da biste izbjegli nakupljanje natrijeva azida u metalnim cijevima i sprječili opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno zaraznima te je njima potrebno rukovati oprezno (odnosno nositi zaštitne rukavice, odjeću i naočale).
8. Nikada ne pipetirajte ustima te izbjegavajte doticaj uzorka s kožom, sluznicom i očima.
9. Epruvete s krvljem i otpadni materijal za rukovanje treba odložiti u jednokratne spremnike namijenjene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad potrebno je ukloniti u skladu s lokalnim zahtjevima.

KLASIFIKACIJA OPASNOSTI PREMA GHS-U

Nije klasificiran kao opasan



Sigurnosno-tehnički list dostupan je na adresi beckman.com/techdocs

POHRANA I STABILNOST

Reagens se mora čuvati na temperaturi između 2 i 8 °C te zaštićen od svjetlosti, kako prije, tako i poslije otvaranja bočice.

Vijek trajanja zatvorene bočice prema ispitivanju stabilnosti: 730 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dana.

DOKAZ PROPADANJA

Svaka promjena fizičkog izgleda reagensa može upućivati na propadanje te se reagens ne smije upotrebljavati.

Ako su vam potrebne dodatne informacije ili ste primili oštećen proizvod, nazovite korisnički servis tvrtke Beckman Coulter na 800-742-2345 (u SAD-u ili Kanadi) ili se obratite lokalnom predstavniku tvrtke Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans s natrijevim azidom može stvoriti eksplozivne spojeve u metalnim cjevovodima. Pogledajte bilten NIOSH: Explosive Azide Hazard (Opasnost od eksplozije azida) (16. 8. 76.).

Da biste sprječili moguće taloženje komponenata azida, prilikom odlaganja nerazrijeđenog reagensa u otpad odvodne cijevi isperite vodom. Odlaganje natrijeva azida u otpad mora biti u skladu s odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU DIO KOMPLETA:

- Epruvete za uzorce i materijal potreban za uzimanje uzorka.
- Automatske pipete s jednokratnim nastavcima za 10, 100 i 500 µL.
- Plastične hemolitičke epruvete.
- Za dobivanje optimalnih rezultata, preporučuju se sljedeći reagensi (slijedom vezanog specifičnog postupka).
Reagens za pripremu fiksacije/propustljivosti (Ref. A07802 ili A07803).
Komplet PerFix-nc (no centrifuge assay kit), za pripremu bojanja Intra- i Extra- stanica (Ref. B31167 ili B31168)
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primjer: Otopina za fiksiranje IOTest 3 (ref. A07800).
- Izotipska kontrola APC: reagens IOTest (ref. IM2475).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijeva fosfata, 0,145 M natrijeva klorida, pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska miješalica (tip vorteks).
- Citometar toka.

POSTUPAK ZA REAGENS PERFIX-NC

U nastavku je naveden preporučeni postupak za primjenu s kompletom PerFix-nc (komplet za mjerenje bez centrifuge) za preparat za unutarstanično i izvanstanično bojenje (Ref. B31167 ili B31168).

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. IM2475).

PRIPREMA KOMPLETA REAGENSA

Reagensi PerFix-nc u međuspremniku 1 i 2

Nije potrebna rekonstitucija. Oba reagensa mogu se koristiti izravno iz bočica.

Priprema reagensa PerFix-nc u međuspremniku 3

Na licu mjesta pripremite finalni 1X reagens.

Razrijedite 10X koncentrirani PerFix-nc u međuspremniku 3 (finalna 10X otopina) u deioniziranoj vodi: 1 volumen međuspremnika 3 s 9 volumena vode. Prije korištenja dobro promiješajte. Preporučujemo pripremu samo volumena finalnog 1X reagensa potrebnog za dnevne eksperimente.

1. Pomoću pipete usprite 50 µL uzorka krvi na dno svake odgovarajuće označene epruvete. Izbjegavajte stavljati krv na stijenku epruvete; u suprotnom se neće pravilno tretirati.
2. Pipetirajte 5 or 25 µL reagensa za fiksiranje u svaku epruvetu za uzorce, ovisno o tome je li potrebna slaba ili jaka fiksacija (pogledajte upute za uporabu reagensa PerFix-nc da biste saznali pojedinosti o protokolima za slabu/jaku fiksaciju).
3. Odmah izmiješajte i inkubirajte 15 minutana sobnoj temperaturi (od 18 – 25 °C).
4. Ponovno izmiješajte fiksiranu krv i dodajte 300 µL reagensa za propustljivost u svaku epruvetu; odmah izmiješajte.

- Odmah u svaku epruvetu dodajte 10 µL sjedjenih protutijela fluorokroma naspram unutarstaničnih epitopa i površina molekule (dodatno, protutijela se prethodno mogu izmiješati u reagensu za propustljivost i dodati sve zajedno na kraju koraka za fiksaciju).
- Odmah izmiješajte i inkubirajte 15 - 30 minuta na sobnoj temperaturi.
- Dodajte 3 mL finalnog 1X reagensa (pripremljenog od 10X koncentrirane finalne otopine) u svaku epruvetu; odmah izmiješajte; uzorak je sada spremан за analizu na potočnom citometru.

NAPOMENA: pripravci se mogu čuvati za više od 24 sata prije analize citometrijom, savjetujemo da ih pohranite na temperaturama od 2 do 8 °C te zaštićene od svjetla.

POSTUPAK S REAGENSONM INTRAPREP

U nastavku je preporučeni postupak za korištenje s reagensom za IntraPrep fiksacije/ propustljivosti (Ref. A07802 ili A07803).

Za svaki uzorak koji se analizira može se uz testnu epruvetu dodati jedna kontrolna epruveta u kojoj su stanice pomiješane u prisutnosti izotipskih kontrola (ref. IM2475).

Za uzorak krvi, optimalno bojanje dobiveno je korištenjem broja leukocita između 3 i 10×10^3 stanica / µL. Ako je koncentracija leukocita veća od 10×10^3 stanica / µL, razrijedite (11).

- U svaku epruvetu za uzorce dodajte 50 µL uzorka krvi pomiješane s EDTA-om.
- Dodajte u svaku epruvetu 100 µL reagensa IntraPrep 1 (fiksacija).
- Epruvete energično miješajte u vorteks-miješalici od 3 do 5 sekundi.
- Inkubirajte 15 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
- Dodajte 4 mL PBS-a u svaku epruvetu.
- Centrifugirajte 5 min pri 300 x g na sobnoj temperaturi. Uklonite supernatant aspiracijom.
- U svaku epruvetu dodajte 100 µL reagensa 2 IntraPrep (permeabilizacija). Ostavite da se izmiješa difuzijom. NEMOJTE MIJEŠATI U VORTEKS-MIJEŠALICI.
- Inkubirajte 5 min na sobnoj temperaturi i ne tresite.
- Epruvete pažljivo i ručno miješajte od 2 do 3 sekunde.
- Dodajte 10 µL konjugiranog antitijela specifičnog za IOTest u svaku testnu epruvetu i, ako je potrebno, 10 µL izotipske kontrole u svaku kontrolnu epruvetu.
- Inkubirajte od 15 do 20 min na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C), zaštićeno od svjetlosti.
- Dodajte 4 mL PBS-a i centrifugirajte 5 min na 300 x g na sobnoj temperaturi.
- Aspiracijom uklonite supernatant i stanična zrnca ponovno pretvorite u suspenziju u 0,5 do 1 mL otopine za fiksiranje IOTest 3 (ref. broj A07800) u radnoj koncentraciji (1x).
- Pripreme su spremne za citometrijsku analizu.

NAPOMENA: Ako će se pripravci čuvati duže od 2 sata prije citometrijske analize, preporučuje ih se čuvati na 2-8 °C i zaštititi od svjetlosti. Pripravci se međutim, tako mogu čuvati ne duže od 24 sata.

OEČEKIVANE VRJEDNOSTI

U našim su laboratorijima obrađeni uzorci pune krvi naizgled zdravih donora (njih 25) pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati prikupljeni pomoću tog reagensa u svrhu brojanja pozitivnih relevantnih događaja navedeni su u tablici u nastavku:

Sustav za liziranje PerFix-nc:

Positivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	10,98	4,13	37,60

Sustav za liziranje IntraPrep:

Positivna ciljna vrijednost	Broj	Srednja vrijednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	10,02	4,03	40,19

Te su vrijednosti samo okvirne. Svaki laboratorij mora utvrditi vlastite očekivane vrijednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o performansama dobivaju se prethodno opisanim postupkom na manje od 24 sata starim uzorcima krvi prethodno prikupljenima u sterilne epruve uz EDTA sol kao antikoagulans. Analiza se provodi u roku od 2 sata nakon imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekula CD79a dio je disulfidom povezanog heterodimera CD79a / CD79b, nekovalentno vezanog na površinu imunoglobulina radi formiranja receptora B-stranica (BCR-ova) (12). Do ekspresije molekule CD79a dolazi rano u ontogenezi B-stranica, pa je njezina lokalizacija u pro-B fazi citoplazmična. CD79a poslije čini dio BCR-a. Njezina membranska ekspresija ostaje do plazmocitne faze, u kojoj joj lokalizacija ponovno postaje citoplazmična (13).

MAb HM47 reagira s intracitoplazmičnim epitopom molekule CD79a (13). Dodijeljen je bilježu CD79a tijekom 5. radionice HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA radionice o razlikovnim antigenima humanih leukocita), koja je održana u Bostonu (SAD) 1993. godine (WS šifra: cB017, odjeljak B) (13).

PRECIZNOST

Postotne pozitivne vrijednosti utvrđene su pomoću pune krvi. Svaki je uzorak obrađen 4 puta, dvaput dnevno tijekom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa s monoklonskim antitijelima CD79a-APC. Mjerenja (% pozitivnih vrijednosti) provedena su s pomoću citometra toka Navios. Analiza je provedena

na temelju CLSI metode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procjena radnih značajki preciznosti metoda kvantitativnog mjerjenja).

Naši kriteriji prihvatljivosti ovise o broju pozitivnih događaja izmјerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivni događaj < 1500, CV < 15 %
- Ako je pozitivni događaj > 1500, CV < 10 %

Sustav za liziranje PerFix-nc:

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 1026							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sustav za liziranje IntraPrep:

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrijednost) = 880							
	Među operatorima	Među citometrima	Unutar lota	Među lotovima	Među obradama	Unutar obrade	Ukupno
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost mjerjenja CD79a-APC procijenjena je usporedbom rezultata s referentnim reagensom kao predikatom na skupu uzoraka pune krvi obrađenima na protočnom citometru Navios. Odstupanje između testa i referentnog reagensa utvrđeno je na temelju razlike između rezultata testa. Ako je odstupanje unutar dopuštenog raspona pogreške ili ako p-vrijednost upućuje na to da nema značajne razlike (> 0,05), rezultati testa za dva reagensa smatraju se istovjetnima.

Dobiveni rezultati sažeti su u tablici u nastavku:

Sustav za liziranje PerFix-nc:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	0,32	<3	0,005	PASS

Sustav za liziranje IntraPrep:

Broj donora = 25				
Pozitivna ciljna vrijednost	Srednja vrijednost Δ	Kriterij stanica Δ %	p-vrijednost	REZULTATI
Limfociti	0,09	<3	0,659	PASS

GRANICA SLIJEPE PROBE I GRANICA DETEKCIJE

Ispitivanje je izvedeno u skladu s dokumentom CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Procjena sposobnosti otkrivanja za postupke mjerjenja u kliničkim laboratorijima). Granica detekcije (LOD) – najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti. Dobiveni rezultati sažeti su u sljedećoj tablici:

Sustav za liziranje PerFix-nc:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	0	4

Sustav za liziranje IntraPrep:

Positive Target	Granica slijepe probe (stanica/µL)	Granica detekcije (stanica/µL)
Limfociti	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti pogrešne rezultate ako citometar nije savršeno poravnat, ako fluorescentna curenja nisu pravilno kompenzirana i ako regije nisu pažljivo pozicionirane.
2. Točni i ponovljivi rezultati dobivat će se sve dok se postupci izvode u skladu s tehničkom brošurom i u skladu s dobrim laboratorijskim praksama.
3. Konjugirano antitijelo tog reagensa kalibrirano je tako da pruža najbolji omjer specifičnog i nespecifičnog signala. Zato je važno pridržavati se omjera volumena reagensa i volumena uzorka prilikom svakog testiranja.
4. U slučaju hiperleukocitoze razrijedite uzorak u PBS-u da biste dobili vrijednost od približno 5×10^9 leukocita/L (11).
5. Pri određenim bolestima, kao što je ozbiljno zatajenje bubrega ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak i nemoguće. U tom se slučaju prije bojenja preporučuje izoliranje jednojezgrenih stanica s pomoću gradijenta gustoće (na primjer, Ficoll) (14).
6. U pacijenata koji primaju terapiju monoklonskim antihumanim antitijelima detekcija određenih ciljanih antigena može biti smanjena ili nepostojеća zbog djelomičnog ili potpunog blokiranja terapijskih antitijela.
7. Rezultate CD79a-APC treba tumačiti u kontekstu ukupne kliničke slike pacijenta, uključujući simptome, anamnezu, podatke iz dodatnih testova i druge odgovarajuće informacije.

Za primjere i reference pogledajte Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizirani logotip te označke proizvoda i usluga tvrtke Beckman Coulter žigovi su ili registrirani žigovi tvrtke Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim državama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta / korisnika / treću stranu u Europskoj uniji i u državama s identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskim proizvodima za in vitro dijagnostiku): ako tijekom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe dođe do ozbiljnog štetnog događaja, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovu ovlaštenom zastupniku te nadležnom nacionalnom tijelu.

Summary of Safety and Performance (Sažetak podataka o sigurnosti i performansama) potražite u bazi podataka EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

POVIJEST REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum objave: listopad 2019.
REVIZIJA	Datum objave
AW Ažuriranja radi usklađivanja s pravilnikom o globalnom označavanju tvrtke Beckman Coulter i u skladu sa zahtjevima uredbe (EU)2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVD-R):	
Dodani odjeljci	Broj BSI 2797, Ciljni korisnik, Klinička relevantnost, Koncentracija, Preciznost, Točnost, Granica slijepne probe i granica detekcije, Dodatne informacije, Povijest revizija.
Dodane informacije	Pogledajte odjeljke Ograničenja
Preformuliranje ili tipografska ažuriranja	Pogledajte odjeljke Postupak, Performanse, Ograničenja, Upozorenje i mjere opreza, Pohrana i stabilnost.
Uklonjeni odjeljci	Primjer kliničkih primjena, Reagensi, Unutarlaboratorijska obnovljivost, Linearnost
Ažurirani odjeljci	Namjena, Klasifikacija opasnosti prema GHS-u, Dokaz pogoršanja stanja, Postupak, Dodatak.
REVIZIJA	Datum objave
AX	
Ažurirani odjeljci	Dodati kazaški
Ažurirani odjeljci	Čuvanje i stabilnost

Pojmovnik simbola

Pojmovnik simbola dostupan je na web-mjestu beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Спецификации
Специфичност	CD79a
Клонинг	HM47
Хибридома	NS1 x balb/c
Имуноген	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Имуноглобулин	IgG1
Вид	Мишка
Пречистване	Афинитетна хроматография
Флуорохром	Allophycocyanin (APC)
Моларно съотношение	APC / Ig: 0,5 - 1,5
λ възбудждане	633/638 nm
Емисионен пик	660 nm
Буфер	PBS pH 7,2 плюс 2 mg/mL BSA и 0,1 % NaN ₃

IOTest

Конюгирано антитяло CD79a-APC

[REF] B36287 100 теста; 1 mL, 10 µL / test

За ин витро диагностика

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Това флуорохром-конюгирано антитяло позволява качествена и неавтоматизирана идентификация с помощта на поточна цитометрия на клетъчни популации, експресиращи CD79a антиген, присъстващ в човешки биологични преби (вижте раздел „Преби“ по-долу).

ПРИНЦИП

Този тест се базира на способността на специфични моноклонални антитела да се свързват с антигенини детерминанти, експресирани от левкоцитите.

Пропускливостта се предизвиква в цитоплазмените мембрани на левкоцитите, за да бъдат демонстрирани вътреклетъчните антигенини детерминанти чрез моноклонални флуоресцентни антитела. След това левкоцитите се анализират чрез поточна цитометрия.

Поточният цитометър измерва разсейването на светлината и флуоресценцията на клетките. Това прави възможно разграничаването на популацията, която се изследва, в електронния прозорец, дефиниран на една хистограма, която корелира с ортогоналната дифузия на светлината (странично разсейване) и дифузията на тесноъгълна светлина (предно разсейване). Други хистограми, комбиниращи два от различните параметри на разположение на цитометъра, могат да бъдат използвани като основа в етапа на определяне на област за анализ в зависимост от приложението, избрано от потребителя.

Флуоресценцията на разграничени клетки се анализира, за да се разграничават позитивно оцветените събития от неоцветените такива. Резултатите се изразяват като процент на положителни събития във връзка с всички събития, получени от определянето на областта за анализ.

ПРЕДВИДЕН ПОТРЕБИТЕЛ

Този продукт е предназначен само за лабораторна професионална употреба.

КЛИНИЧНА ЗНАЧИМОСТ

CD79a-APC е антитяло CD79a, използвано за идентифициране и характеризиране чрез поточна цитометрия на клетки, експресиращи CD79a антиген. Този продукт не може и не е предназначен самостоятелно да генерира каквото и да е диагностично заключение.

Когато се използва в комбинация с други маркери, този продукт може да се използва в една или повече от следните функции:

- Като помошно средство при поставяне на диференциална диагноза на хематологично абнормни пациенти, съспектни за хематохелично новообразувание, и за проследяване на пациенти с известно хематохелично новообразувание.

Вижте следните справки:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозна кръв трябва да се взема в стерилни епруветки, съдържащи сол EDTA като антикоагулант.

Пробите трябва да бъдат съхранявани при стайна температура (18–25°C) и не трябва да се разклащат. Пробите трябва да бъдат хомогенизираны чрез внимателно смесване, преди да се вземе пробата за теста.

Пробите трябва да бъдат анализирани в рамките на 24 часа от венопунктурата.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Вижте Сертификата за анализ за конкретната партида на www.beckman.com.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте реактива след изтичане на срока на годност.
2. Не замразявайте.
3. Оставете на стайна температура (18–25°C) преди употреба.
4. Минимизирайте излагането на светлина.
5. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, в противен случай е възможно да се получат погрешни резултати.

6. С разтворите на антитела, съдържащи натриев азид (NaN_3), трябва да се работи внимателно. Не приемайте вътрешно и избягвайте всякакъв контакт с кожата, лигавицата и очите.
В допълнение, в киселинна среда натриевият азид може да образува потенциално опасната хидразоена киселина. Ако тя трябва да се изхвърли, препоръчва се реактивът да се разреди в голям обем вода, преди да се излее в дренажната система, за да се избегне натрупването на натриев азид в металните тръби и да се предотврати рисък от експлозия.
7. Всички кръвни преби трябва да се считат за потенциално заразни и с тях трябва да се борави внимателно (по-специално: носене на защитни ръкавици, облекло и очила).
8. Никога не пипетирайте с уста и избягвайте всякакви контакти между пробите и Вашата кожа, лигавица и очи.
9. Епруветките за кръв и материалите за еднократна употреба, използвани за боравене, трябва да се изхвърлят във временни контейнери, предназначени за изгаряне.
10. Реактивите и отпадъците трябва да бъдат елиминирани в съответствие с местните изисквания.

КЛАСИФИЦИЯ НА ОПАСНОСТИТЕ ПО GHS

Не е класифициран като опасен



Информационният лист за безопасност е наличен на beckman.com/techdocs

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Този реактив трябва да се съхранява при температури между 2 и 8°C и да бъде защищен от светлина преди и след отваряне на флаcona.

Изследване на срок на годност при затворена епруветка и стабилност: 730 дни.

Стабилност на отворен флаcon: реактивът е стабилен за 180 дни.

ДАННИ ЗА ВЛОШАВАНЕ

Всяка промяна във физическия изглед на реактивите може да е признак за влошаване и реактивът не трябва да бъде използван.

За допълнителна информация или при получаване на повреден продукт се свържете с отдела за обслужване на клиенти на Beckman Coulter на тел. 800-742-2345 (САЩ или Канада) или се свържете с местния представител на Beckman Coulter.

СЪДЪРЖАНИЕ

Консервантът натриев азид може да образува експлозивни съединения в метални отводнителни тръбопроводи. Вижте Бюлетина на NIOSH: Explosive Azide Hazard (Бюлетин на Националния институт по безопасност и хигиена на труда: Опасност от експлозия на азид) (16/8/76). За да избегнете възможно натрупване на азидни съединения, промивайте канализационните тръби с вода след изхвърляне на неразтворен реактив. Изхвърлянето на натриев азид трябва да бъде в съответствие с местните разпоредби.

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ДОСТАВЕНИ С КОМПЛЕКТА:

- Епруветки за преби и материали, необходими за вземане на преби.
- Автоматични пипети с накрайници за еднократна употреба за 10, 100 и 500 μL .
- Пластмасови хемолизни епруветки.
- За получаване на оптимални резултати се препоръчва някой от следните реактиви (следвайте свързаната с тях конкретна процедура)
Фиксиращ / Пермеабилизиращ реактив IntraPrep (Реф. A07802 или A07803)
Набор PerFix-nc (no centrifuge assay kit), за препарат за вътре-и извънклетъчно оцветяване (Реф. B31167 или B31168)
- Реактив за левкоцитна фиксация. Например: IOTest 3 фиксиращ разтвор (Реф. A07800).
- Изотипна контрола APC: Реактив IOTest (Реф. № IM2475).
- Буфер (PBS: 0,01 M натриев фосфат; 0,145 M натриев хлорид; pH 7,2).
- Центрофугирайте.
- Автоматичен агитатор (тип вортекс).
- Поточен цитометър.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВА PERFIX-NC

По-долу е препоръчителната процедура за използване с набор PerFix-nc (без набор за анализ чрез центрофугиране) за подготовка на вътрешно и външно клетъчно оцветяване (Реф. № B31167 или B31168).

За всяка анализирана преба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. IM2475).

ПОДГОТОВКА НА НАБОРА ЗА РЕАКТИВА

Реактиви 1 и 2 на буфера на PerFix-nc

Не е необходима реконституция на разтворите. И двата реагента могат да се използват директно от шишенцето.

Подготовка на реагента PerFix-nc буфер 3

Подгответе финалния реактив 1X непосредствено преди употреба.

Разредете 10X концентрирания буфер 3 на PerFix-nc (финален 10X разтвор) в дейонизирана вода: 1 обем от буфер 3 с 9 обема вода. Размесете добре преди употреба. Ние ви препоръчваме да подгответе само обема на финалния реактив 1X, необходим за пребите за деня.

1. Отделете с пипета 50 μL от кръвната преба на дъното на всяка надлежно надписана епруветка. Избягвайте да пускате от кръвта по стените на епруветката; в противен случай тя няма да бъде правилно третирана.

- Пипетирайте 5 or 25 μL фиксиращ реактив във всяка епруветка, в зависимост от това дали се изисква висока или ниска фиксация (вижте инструкциите за употреба на PerFix-nc за подробности относно протоколите за ниска/висока фиксация).
- Веднага вортексирайте и инкубирайте за 15 минути на стайна температура ($18 - 25^\circ\text{C}$).
- Завъртете отново фиксираната кръв и добавете 300 μL от Пермеабилизирана реактив към всяка епруветка; завъртете незабавно.
- Добавете незабавно към всяка епруветка по 10 μL от флуорохром-конюгираните антитела при вътреклетъчните епитопи и повърхностните молекули (или антителата могат да бъдат предварително смесени в Пермеабилизирана реактив и добавени заедно в края на етапа на фиксиране).
- Завъртете незабавно и инкубирайте за 15 - 30 минути на стайна температура.
- Добавете 3 mL от Финалния реактив 1X (подгответ от 10X концентрирания Финален разтвор) към всяка епруветка; завъртете незабавно; сега пробата е готова за анализ на поточен цитометър.

ЗАБЕЛЕЖКА: Препаратите могат се съхраняват за 24 часа преди цитометричния анализ, препоръчително е да ги съхранявате при температура $2 - 8^\circ\text{C}$ и защитени от светлина.

ПРОЦЕДУРА С РЕАКТИВ INTRAPREP

Долупосочената процедура да се извършва с фиксирация / пермеабилизиращ реактив IntraPrep (Реф. A07802 или A07803).

За всяка анализирана проба освен тестовата епруветка може да се добави и една контролна епруветка, в която клетките да са смесени в присъствието на изотипната контрола (Реф. IM2475).

За кръвна проба оптималното оцветяване се получава чрез използването на множество левкоцити между 3 и 10×10^3 клетки / μL . Ако левкоцитната концентрация е по-голяма от 10×10^3 клетки / μL , разредете я (11).

- Добавете 50 μL кръв, тествана в EDTA, във всяка епруветка.
- Добавете към всяка епруветка 100 μL от реактив 1 IntraPrep (Фиксиране).
- Завъртете енергично епруветките с вортекс за 3 до 5 секунди.
- Инкубирайте за 15 минути при стайна температура ($18 - 25^\circ\text{C}$), като предпазвате от светлина.
- Добавете по 4 mL PBS във всяка епруветка.
- Центрофугирайте 5 минути при $300 \times g$ при стайна температура. Отстранете надутаечната течност чрез аспирация.
- Добавете към всяка епруветка 100 μL IntraPrep реактив 2 (пермеабилизация). Оставете да се смеси чрез дифузия. НЕ ЗАВЪРТАЙТЕ ВЪВ ВОРТЕКС.
- Инкубирайте за 5 минути при стайна температура, без да разклащате.
- Разкллатете епруветките внимателно и ръчно за 2 до 3 секунди.
- Добавете 10 μL специфично IOTest конюгирано антитяло във всяка тестова епруветка и, ако е необходимо, 10 μL изотипна контрола във всяка контролна епруветка.
- Инкубирайте за 15 до 20 минути при стайна температура ($18 - 25^\circ\text{C}$), като предпазвате от светлина.
- Добавете 4 mL от PBS и центрофугирайте при $300 \times g$ за 5 минути при стайна температура.
- Отстранете надутаечната течност чрез аспириране и ресуспендирайте клетъчната маса в 0,5 до 1 mL фиксиращ разтвор IOTest 3 (Ref. A07800) в неговата работна концентрация (1X).
- Препаратите са готови за цитометричен анализ.

ЗАБЕЛЕЖКА: Ако препаратите ще се съхраняват за повече от 2 часа преди цитометричния анализ, е препоръчително да ги съхранявате при температура $2 - 8^\circ\text{C}$ и защитени от светлина. Въпреки това не съхранявайте препаратите по този начин за повече от 24 часа.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

В нашите лаборатории бяха третирани пробите цялостна кръв на 25 видимо здрави донори с описание по-горе реактив. Получените с този реактив резултати за броя на положителните събития, които са от значение, са дадени в таблицата по-долу:

Лизираща система PerFix-nc:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	10,98	4,13	37,60

Лизираща система IntraPrep:

Положителна цел	Брой	Средна (%)	SD	CV (%)
Лимфоцити	25	10,02	4,03	40,19

Тези стойности са само представителни. Всяка лаборатория трябва да установи свои очаквани стойности от местната популация нормални донори.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данните за ефективността се получават с помощта на описаната по-горе процедура за кръвни преби до 24 часа, предварително събрани в стерилни епруветки със сол EDTA като антикоагулант. Анализ се извършва в рамките на 2 часа след имуноцветяване.

СПЕЦИФИЧНОСТ

Молекулата CD79a е част от CD79a/CD79b дисулфид-свързан хетеродимер, нековалентно свързана към повърхностните имуноглобулини, за да образува В-клетъчни рецептори (BCR) (12). Експресията на CD79a се проявява рано в онтогенезата на В-клетките и поради това неговата локализация в про-B фазата е цитоплазматична. След това CD79a формира част от BCR. Неговата мембрания експресия персистира до плазмоцитарната фаза, фазата в която неговата локализация отново става цитоплазматична (13).

MAb HM47 реагира с интрацитоплазмен епипот на молекулата CD79a (13). По време на 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5-ти Семинар по диференциращи антигени на човешките левкоцити), проведен в Бостън, САЩ през 1993 г. (WS код: cB017, раздел B) (13), той е отнесен към CD79a.

ТОЧНОСТ

Процентните положителни стойности са определени посредством цялостна кръв. Всяка проба е обработена 4 пъти, два пъти на ден за 1 ден на 2 инструмента, като са използвани 2 партиди реактиви с CD79a-APC моноклонално антитяло. Измерванията (% положителни) са направени на поточен цитометър Navios. Анализът е проведен на основата на CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. (Метод EP5-A2 на CLSI: Оценка на точността на методите за количествено измерване.)

Нашите критерии за приемливост зависят от броя положителни събития, измерени за всяка популация:

- Ако положителните събития са < 1500, CV < 15 %
- Ако положителните събития са > 1500, CV < 10 %

Лизираща система PerFix-nc:

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 1026							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Лизираща система IntraPrep:

Лимфоцити							
Брой положителни събития (средно) = 880							
	Между оператори	Между цитометри	Вътрепартидна	Между партиди	Между цикли	В рамките на цикъл	Общо
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
РЕЗУЛТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНОСТ

Точността на CD79a-APC е изследвана чрез сравняване на резултатите с референтен реактив като потвърждение върху група от преби от цялостна кръв, обработени на поточен цитометър Navios. Отклонението между тестовия и референтния реактив се определя въз основа на разликата между резултатите от тества. Ако отклонението е в рамките на допустимия обхват на грешка или р-стойността не показва значима разлика (> 0,05), резултатите от тества за двета реактива се считат за еквивалентни.

Получените резултати са обобщени в таблицата, дадена по-долу:

Лизираща система PerFix-nc:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	р-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	0,32	<3	0,005	PASS

Лизираща система IntraPrep:

Брой донори = 25				
Положителна цел	Средна Δ	Критерии Δ % клетки	р-стойност	РЕЗУЛТАТИ
Лимфоцити	0,09	<3	0,659	PASS

ГРАНИЦА НА СЛЯПА ПРОБА И ГРАНИЦА НА ОТКРИВАНЕ

Проведено е проучване в съответствие с CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оценка на възможността за детекция за измервателни процедури в клинични лаборатории). Границата на откриване (LOD) е най-ниската концентрация на анализа, която може да бъде стабилно открита. Получените резултати са обобщени в следващата таблица:

Лизираща система PerFix-nc:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/ μ L)	Граница на откриване (клетки/ μ L)
Лимфоцити	0	4

Лизираща система IntraPrep:

Positive Target	Граница на сляпата проба (клетки/ μ L)	Граница на откриване (клетки/ μ L)
Лимфоцити	1	2

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Поточната цитометрия може да даде неточни резултати, ако цитометърът не е бил идеално приравнен, ако течове на флуоресценция не са били правилно компенсирали или ако регионите не са били внимателно позиционирани.
2. Ще бъдат получени точни и възпроизведими резултати, при условие, че използваните процедури са в съответствие с техническата листовка и са съвместими с добрите лабораторни практики.
3. Конюгираното антитяло на този реактив е калибрирано, за да се осигури най-доброто съотношение между специфичен сигнал/неспецифичен сигнал. Затова е важно да се придържат към съотношението обем на реактива/обем на пробата във всеки тест.
4. В случай на хиперлевкоцитоза кръвта се разрежда в PBS, така че да се получи стойност приблизително 5×10^9 левкоцити/L (11).

5. При определени болестни състояния, например тежка бъбречна недостатъчност или хемоглобинопатии, лизирането на червените кръвни телца може да бъде бавно, непълно или дори невъзможно. В този случай се препоръчва да се изолират мононуклеарни клетки, като се използва градиент на плътността (Ficoll например) преди оцветяване (14).
6. При пациенти, лекувани с терапии с античовешко моноклонално антитяло, отридането на специфични целеви антигени може да бъде занижено или да липсват поради частично или цялостно блокиране от терапевтичното антитяло.
7. Резултатите от CD79a-APC трябва да се интерпретират спрямо общата клинична презентация на пациента, включваща: симптоми, клинична анамнеза, данни от допълнителни тестове и друга съответстваща информация.

Вижте Приложението за примери и справки.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

Beckman Coulter, стилизираното лого и марките на продуктите и услугите на Beckman Coulter, присъстващи в този документ, са търговски марки или регистрирани търговски марки на Beckman Coulter, Inc. в САЩ и в други държави.

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За пациенти/потребители/трети лица в Европейския съюз и в страни с идентичен регуляторен режим (Регламент 2017/746/EU относно ин витро диагностичните медицински изделия); ако по време на използването на това изделие или в резултат на използването му е настъпил сериозен инцидент, моля, съобщете за това на производителя и/или неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Summary of Safety and Performance (Обобщение на безопасността и работата) е налично в базата данни EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ХРОНОЛОГИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

РЕДАКЦИЯ АС:	Дата на издаване: октомври 2019 г.
РЕДАКЦИЯ	Дата на издаване
AW	
Актуализации с цел съответствие с Глобалната политика за етикетиране на Beckman Coulter и съгласно изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 за медицинските изделия за ин витро диагностика (IVD-R):	февруари 2022 г.
Добавени раздели	Номер 2797 на BSI, Предвиден потребител, Клинична значимост, Концентрация, Прецизност, Точност, Граница на сляпата проба и граница на откриване, Допълнителна информация, Хронология на редакциите.
Добавена информация	Вижте разделите „Ограничения“
Актуализации във формулировките или типографията	Вижте разделите „Процедура“, „Работни характеристики“, „Ограничения“, „Предупреждения и предпазни мерки“, „Съхранение и стабилност“.
Премахнати раздели	Пример за клинични приложения, Реактиви, Вътрешнолабораторна възпроизводимост, Линейност
Актуализирани раздели	Предвидена употреба, Класификация на опасностите по GHS, Признания за влошаване, Процедура, Приложение.

РЕДАКЦИЯ	Дата на издаване
AX	
Актуализирани раздели	Добавен е казахски
Актуализирани раздели	Съхранение и стабилност

Легенда на символите

Речник на символите е наличен на beckman.com/techdocs (номер на документа B60062)

	規格
專一性	CD79a
轉殖	HM47
融合瘤	NS1 x balb/c
免疫原	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
免疫球蛋白	IgG1
物種	小鼠
純化	親和力層析法
螢光染料	Allophycocyanin (APC)
莫耳比率	APC/Ig : 0.5 - 1.5
λ 激發	633/638 nm
發射峰	660 nm
緩衝劑	PBS pH 7.2 加 2 mg/mL BSA 及 0.1% NaN ₃

IOTest 結合抗體

CD79a-APC

[REF] B36287 100 次檢測；1 mL, 10 µL/檢測

體外診斷使用

預期用途

使用此螢光染料結合的抗體，能夠以流式細胞分析儀器對人體生物檢體中出現的表現 CD79a 抗原之細胞群進行非自動化定性鑑別（請參閱下列「檢體」部分）。

原理

本測試的基礎在於特異性單株抗體結合由白血球表現之抗原決定簇的能力。

誘導細胞質膜通透性增加，以透過單源螢光抗體展示細胞內抗原決定簇。然後透過流式細胞分析儀器分析白血球。

流式細胞分析儀器可測量細胞的光漫射和螢光。這樣可以界定直方圖上定義的電子窗口內的目標群體，直方圖可以關聯光的正交漫射（側向角散射，即 SS）和窄角光的漫射（前向角散射，即 FS）。細胞分析儀器上可用之結合兩個不同參數的其他直方圖，可用於支持圈選階段，這取決於使用者所選的應用。

為了區分陽性染色事件和未染色事件，對劃定細胞的螢光進行了分析。結果表示為陽性事件相對於圈選所得全部事件的百分比。

預期使用者

本產品為實驗室專用。

臨床相關性

CD79a-APC 是一種 CD79a 抗體，以流式細胞分析儀器使用此抗體庫可辨認表達 CD79a 抗原的細胞並鑑別其特徵。單獨使用此程序並不足以診斷出任何結果。

本產品搭配其他標誌物使用時，可發揮以下一或多個功能：

- 可輔助疑似罹患造血組織腫瘤之血液異常患者的鑑別診斷，並可監測已知罹患造血組織腫瘤的患者。

請參閱下列參考資料：

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

檢體

靜脈血必須使用無菌試管抽取，此無菌試管中含有 EDTA 鹽作為抗凝劑。

檢體應存放在室溫 (18~25°C)，且不得搖晃。取用測試檢體前，應將檢體輕輕攪動，使之均勻化。

檢體必須在靜脈穿刺後 24 小時內進行分析。

濃度

請參閱 www.beckman.com 參閱各批次專屬的分析證書。

警告和預防措施

1. 請勿使用過期試劑。
2. 切勿冷凍。
3. 使用前，請將其恢復至室溫 (18~25°C)。
4. 儘量避免陽光直射。
5. 請避免試劑受到微生物污染，否則可能會出現錯誤結果。
6. 含有疊氮化鈉 (NaN₃) 的抗體溶液應謹慎處理。請勿內服，並避免接觸皮膚、黏膜和眼睛。
此外，在酸性介質中，疊氮化鈉可形成具有潛在危害的疊氮酸。若需要對其進行處置，建議在試劑倒入排水系統前以大量清水稀釋，避免疊氮化鈉在金屬管道中累積並預防爆炸。
7. 所有血液檢體必須視為具有潛在傳染性，且必須小心處理（務必穿戴防護手套、防護衣和護目鏡）。
8. 切勿用嘴吸液，並避免檢體接觸皮膚、黏膜和眼睛。

9. 用於處理的血液試管和一次性材料應放入焚化專用的特殊容器中處置。
10. 應根據當地要求清除試劑和廢棄物。

GHS 危害分類

未歸類為危險物質



安全性資料表載於 beckman.com/techdocs

存儲和穩定性

在打開試劑瓶前後，試劑必須避光保存於 2~8°C。

穩定性研究的封閉式藥瓶有效期限：730 天。

開瓶後穩定性：試劑穩定性可維持 180 天。

變質的證據

試劑外觀的任何變化表示可能發生變質，因此不應使用該試劑。

如需瞭解其他資訊，或如果收到已損壞的產品，請撥打 800-742-2345 (美國或加拿大) 聯絡貝克曼庫爾特客戶服務部，或聯絡您當地的貝克曼庫爾特代表。

內容物

疊氮化鈉防腐劑可能會在金屬排水管道中形成爆炸性化合物。請參閱 NIOSH Bulletin : Explosive Azide Hazard (爆炸性疊氮化物危害) (76/8/16)。為防止疊氮化合物可能累積，丟棄未稀釋的試劑後請用水沖洗污水管。必須依照相關當地法規丟棄疊氮化鈉。

試劑盒未提供但卻需要的材料：

- 採樣時需要採樣試管和材料。
- 帶有可吸取 10、100 和 500 μL 一次性吸頭的自動移液器。
- 塑膠溶血試管。
- 若要獲取最佳結果，建議您使用下列的一種試劑（遵守相關特殊程序）。
IntraPrep 固定/通透化試劑 (REF A07802 或 A07803)。
PerFix-nc 試劑盒（免離心檢測試劑盒），用於細胞內外染色準備 (REF B31167 或 B31168)。
- 白血球固定試劑。舉例：IOTest 3 固定液 (參考 A07800)。
- 同型品管劑 APC : IOTest 試劑 (參考 IM2475)。
- 緩衝劑 (PBS : 0.01 M 磷酸鈉；0.145 M 氯化鈉；pH 7.2)。
- 離心機。
- 自動攪拌器（漩渦型）。
- 流式細胞分析儀器。

使用PERFIX-NC試劑的程序

建議按以下程序使用 PerFix-nc 試劑盒（免離心檢測試劑盒）進行細胞內外染色準備（參考 B31167 或 B31168）。

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑（參考 IM2475）。

試劑盒試劑配製

PerFix-nc 緩衝液 1 和 2 試劑

無需修復。兩種試劑均可直接從瓶中提取使用。

PerFix-nc 緩衝液 3 試劑配製

臨時配製 1X 最終試劑。

使用去離子水將 10 倍濃度 PerFix-nc 緩衝液 3 (10X 最終溶液) 稀釋：1 份緩衝液 3 加入 9 份水。在使用前充分混合。我們建議您僅準備當天試驗所需的 1X 最終試劑量。

1. 將 50 μL 血液檢體移到每個正確貼標的試管底部。避免血液沾到試管側壁，否則無法正確測定。
2. 將 5 or 25 μL 固定劑移到每個試管中，視低固色或高固色要求而定（請參閱 PerFix-nc 使用說明以獲取低/高固色程序的詳細資訊）。
3. 在室溫(18 – 25°C)下立即旋轉並培養 15 分鐘。
4. 再次振盪固定血液，並將 300 μL 通透化試劑添加到每個試管中；立即振盪。
5. 立即將 10 μL 抗細胞表位和表層分子的螢光染料結合抗體添加到每個試管中（或者將抗體預先混合到通透化試劑中，並在固定步驟結束時一同添加）。
6. 立即振盪，並在室溫下培養 15-30 分鐘。
7. 將 3 mL 1X 最終試劑添加到（使用 10 倍濃度的最終溶液配製）每個試管中；立即振盪；此時可在流式細胞分析儀器上分析檢體。

註：備品可在進行細胞分析前存放 24 小時，建議您將其避光存放在 2-8°C 的條件下。

使用 INTRAPREP 試劑的程序

建議按以下程序使用 IntraPrep 固定/通透化試劑 (REF A07802 或 A07803)

對於已分析的每項檢體，除使用測試試管外，可再增加一個品管劑試管，以在其中混合細胞與同型品管劑（參考 IM2475）。

對於血液檢體，使用大量濃度為 3 至 10×10^3 cells/ μL 的白血球可獲得最佳的染色效果。若白血球濃度大於 10×10^3 cells/ μL ，請將其稀釋 (11)。

- 將添加 EDTA 採樣的 50 μ L 血液添加到每個試管中。
- 在每個試管中添加 100 μ L IntraPrep 試劑 1 (固定)。
- 劇烈震盪試管 3 至 5 秒。
- 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15 分鐘。
- 向每個試管中添加 4 mL PBS。
- 在室溫下以 300 \times g 離心 5 分鐘。吸除上清液。
- 在每個試管中添加 100 μ L IntraPrep 試劑 2 (通透化)。讓其透過擴散混合。切勿震盪。
- 在室溫下靜置反應 5 分鐘。
- 仔細手動晃動試管 2 至 3 秒。
- 向每個測試試管添加 10 μ L 特異性 IOTest 結合抗體，如果需要，向每個質控試管添加 10 μ L 同型質控品。
- 在室溫 (18~25°C) 下避光反應 15~20 分鐘。
- 添加 4 mL PBS，並在室溫下以 300 \times g 離心 5 分鐘。
- 吸除上層清液並在 0.5~1 mL IOTest 3 固定劑 (REF A07800) 中以其使用濃度 (1X) 重新懸浮細胞微粒。
- 製劑目前可用於細胞分析。

註：若備品需要在進行細胞分析前存放 2 小時以上，建議您將其避光存放在 2~8°C 的條件下。但是，備品的存放時間不得超過 24 小時。

預期值

在我們的實驗室中，採用上述試劑處理 25 名明顯健康的捐贈者的全血檢體。使用該試劑進行陽性目標事件計數得到的結果如下表所示：

PerFix-nc 溶解系統：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	10.98	4.13	37.60

IntraPrep 溶解系統：

陽性目標	數量	平均值 (%)	SD	CV (%)
淋巴球	25	10.02	4.03	40.19

這些數值是具代表性的參考值。每個實驗室都應運用當地正常捐贈者族群的檢測結果，自行確立適用的預期值。

性能

對於之前採集在無菌試管 (含有 EDTA 鹽作為抗凝劑) 中短於 24 小時的血液檢體，使用上面描述的程序獲取了性能資料。在免疫染色後的 2 小時內進行分析。

專一性

CD79a 分子是 CD79a / CD79b 二硫化物鍵合異二聚體的一部分，它與表面免疫球蛋白非共價結合形成 B 細胞受體 (BCR) (12)。CD79a 表達於 B 細胞個體發育早期，因此它在前 B 階段處於細胞質內。隨後，CD79a 形成 BCR 受體的一部分。它在膜上的表達持續至漿細胞階段，到該階段時，它又再處於細胞質內 (13)。

MAb HM47 與 CD79a 分子的胞漿內表位產生反應 (13)。在 1993 年於美國波士頓舉行的 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (第 5 屆人類白血球分化抗原 (HLDA) 研討會) 上，它被指定為 CD79a (WS 代碼 : cB017, Section B) (13)。

準確度

使用全血測定了百分比陽性值。每項檢體皆使用 2 個批次的 CD79a-APC 單株抗體試劑，以 2 台儀器 1 天運行 2 次，共運行了 4 次。使用 Navios 流式細胞分析儀器檢測結果 (陽性 %)。根據 CLSI method EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (CLSI 方法 EP5-A2：評估定量檢測方法的準確度性能) 進行分析。

我們的接受標準視各族群所檢測的陽性事件數量而定：

- 若陽性事件數量 < 1,500，則 CV < 15%
- 若陽性事件數量 > 1,500，則 CV < 10%

PerFix-nc 溶解系統：

淋巴球							
陽性事件數量 (平均值) = 1026							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.79	0.95	3.88	1.03	1.73	2.97	4.13
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep 溶解系統：

淋巴球							
陽性事件數量 (平均值) = 880							
	各操作者間	各台細胞分析儀器間	批內	批間	各次執行間	各次執行內	總計
CV (%)	1.24	2.36	4.79	1.22	2.36	3.98	5.48
結果	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

準確性

評估 CD79a-APC 準確性的方式，是比較它與參考試劑用於添加了陽性細胞的一組全血檢體，在 Navios 流式細胞分析儀器上進行化驗時，其結果有何差異。根據測試結果間的差異，測定了測試與參考試劑之間的偏差。如果此偏倚在允許的誤差範圍內或 P 值並未顯示顯著差異 (> 0.05)，則兩種試劑的測試結果視為相當。

所得結果總結於下表：

PerFix-nc 溶解系統：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	0.32	<3	0.005	PASS

IntraPrep 溶解系統：

捐贈者數量 = 25				
陽性目標	平均值差	細胞標準 Δ %	P 值	結果
淋巴球	0.09	<3	0.659	PASS

空白檢體的偵測極限與偵測極限

按照 CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2 , 臨床實驗室測定程序的偵測能力評估) 開展了一項試驗。偵測極限 (LOD) 是指可始終被偵測出的最低分析物濃度。所得結果總結於下表：

PerFix-nc 溶解系統：

Positive Target	空白檢體的偵測極限 (細胞數/ μ L)	偵測極限 (細胞數/ μ L)
淋巴球	0	4

IntraPrep 溶解系統：

Positive Target	空白檢體的偵測極限 (細胞數/ μ L)	偵測極限 (細胞數/ μ L)
淋巴球	1	2

限制條件

- 流式細胞分析儀器在下列情況下可能產生錯誤結果：細胞分析儀器未正確校正、螢光洩漏未正確補償、相關區域並未仔細定位。
- 按照技術手冊採用相關流程並遵循優良實驗室操作規範，便可得到準確且可重複的結果。
- 此試劑的結合抗體已經過校正，以提供最佳的特異性訊號/非特異性訊號比率。因此，在每次測試中遵守試劑體積/檢體體積比率很重要。
- 如果白血球過多，請在 PBS 中稀釋血液，使白血球濃度約為 5×10^9 顆/L (11)。
- 在嚴重腎衰竭、血色素病變等特定疾病狀態中，紅血球溶解可能會變得緩慢、不完全，甚至無法溶解。在這種情況下，建議在染色前使用密度梯度（例如聚蔗糖）分離單核球 (14)。
- 使用抗人單株抗體療法治療患者時，由於治療抗體的部分或完全阻斷，偵測到的特定目標抗原可能會減少或完全偵測不到。
- CD79a-APC 結果的判讀應結合患者的整體臨床表徵，包括：症狀、臨床病史、其他測試的資料以及其他相關資訊。

請參閱附錄以閱讀舉例和參考文獻。

商標

Beckman Coulter、徽標以及本文述及的貝克曼庫爾特公司產品和服務標記是美國貝克曼庫爾特有限公司在美國和其他國家的商標或註冊商標。

其他資訊

對於患者/使用者/第三方（在歐盟和有相同監管制度（體外診斷醫療裝置法規，2017/746/EU）的國家）；如果在使用中或由於使用而導致嚴重事件，請將情況回報製造商和/或授權代表，以及貴國主管機關。

Summary of Safety and Performance (安全與性能) 的摘要請參見 EUDAMED 資料庫：ec.europa.eu/tools/eudamed。

修訂歷程記錄

修訂版 AC :	發佈日期：2019 年 10 月
修訂	發行日期
AW	
已新增部分	BSI 2797 編號、預期使用者、臨床相關性、濃度、精密度、準確性、空白檢體的偵測極限和偵測極限、其他資訊、修訂記錄。
已新增資訊	請參閱「限制」部分
修辭或印刷更新	請參閱「程序」、「性能」、「限制」、「警告和預防措施」、「存儲和穩定性」等部分。
已移除的部分	臨床應用範例、試劑、實驗室內再現性、線性
已更新部分	預期用途、GHS 危害分類、變質的證據、程序、附錄。

修訂	發行日期
AX	
已更新部分	新增哈薩克語
已更新部分	存儲和穩定性

符號釋義

符號術語表請參見網站：beckman.com/techdocs (文件編號 B60062)

	Specificații
Specificitate	CD79a
Clonă	HM47
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulină	IgG1
Specie	Șoarece
Purificare	Cromatografia de afinitate
Fluorocrom	Allophycocyanin (APC)
Raport molar	APC/Ig: 0,5 - 1,5
Excitare λ	633/638 nm
Vârful de emisie	660 nm
Soluție tampon	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA și 0,1% NaN ₃

IOTest

Anticorp conjugat

CD79a-APC

[REF] B36287 100 de teste; 1 ml, 10 µl/test

Pentru diagnosticare *in vitro*

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

Acest anticorp conjugat cu fluorocrom permite identificarea calitativă și non-automată a populațiilor celulare care exprimă antigenul CD79a prezent în probele biologice umane prin citometrie în flux (consultați secțiunea „probe” de mai jos).

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe abilitatea anticorpilor monoclonali specifici de a se lege de determinanții antigenici exprimați de leucocite.

Permeabilitatea este indușă în membranele citoplasmice ale leucocitelor pentru a demonstra prezența determinanților intracelulare antigenici, prin anticorpi monoclonali fluorescenti. Leucocitele sunt apoi analizate prin citometrie de flux.

Citometrul în flux măsoară difuzia luminii și fluorescența celulelor. Aceasta face posibilă delimitarea populațiilor de interes în fereastra electronică definită pe o histogramă, care corelează difuzia ortogonală a luminii (Dispersia perpendiculară sau SS – Side Scatter) și difuzia luminii sub un unghi ascuțit (Dispersia pe direcția înainte sau FS – Forward Scatter). Alte histograme care combină doi dintre parametrii diferenți disponibili pe citometru pot fi utilizate ca suporturi în faza de stabilire a porțiilor (gating) în funcție de aplicația aleasă de către utilizator.

Fluorescența celulelor delimitate se analizează pentru distingerea evenimentelor colorate pozitiv de cele necolorate. Rezultatele sunt exprimate ca procentaj de evenimente pozitive în raport cu toate evenimentele obținute de gating.

UTILIZATOR PRECONIZAT

Acest produs este destinat utilizării profesionale în laborator.

RELEVANȚĂ CLINICĂ

CD79a-APC este un anticorp CD79a utilizat pentru a identifica și caracteriza celulele care exprimă antigenul CD79a prin citometrie în flux. Acest produs în sine nu poate și nu este conceput pentru a genera concluzii cu rol de diagnostic.

Atunci când este utilizat în combinație cu alți markeri, acest produs poate fi utilizat pentru una sau mai multe dintre următoarele funcții:

- Pentru a ajuta la obținerea unui diagnostic diferențial pentru pacienții cu anormalități hematologice suspecti de neoplasm hematopoietic și la monitorizarea pacienților cu neoplasm hematopoietic diagnosticat.

Consultați următoarele referințe:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PROBE

Sângel venos trebuie recoltat utilizând eprubete sterile care conțin o sare de EDTA drept anticoagulant.

Se recomandă păstrarea probelor la temperatura camerei (18–25°C). Acestea nu se vor scutura. Se recomandă omogenizarea probelor prin agitare ușoară înainte de recoltarea probei de test.

Proba trebuie analizată în decurs de 24 de ore de la punția venoasă.

CONCENTRAȚIE

Consultați certificatul de analiză specific lotului la adresa www.beckman.com.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Nu utilizați reactivul după data expirării.
2. Nu congelați.
3. Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei (18–25°C).
4. Reduceți la minimum expunerea la lumină.
5. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor. În caz contrar, se pot obține rezultate false.
6. Soluțiile de anticorpi care conțin azidă de sodiu (NaN₃) trebuie manipulate cu atenție. A nu se ingera și a se evita contactul cu pielea, mucoasele și ochii.

În plus, într-un mediu acid, azida de sodiu poate forma acid hidrazoic, un compus potențial periculos. Dacă este necesară eliminarea reactivului, se recomandă ca acesta să fie diluat într-un volum mare de apă înainte de a fi vărsat în sistemul de canalizare pentru a evita acumularea de azidă de sodiu în conductele metalice și pentru a preveni riscul de explozie.

7. Toate probele de sânge trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie manipulate cu grijă (în special: purtarea de mănuși de protecție, halate și ochelari de protecție).
8. Nu pipetați niciodată cu gura și evitați contactul probelor cu pielea, mucoasele și ochii.
9. Eprubetele pentru sânge și materialele de unică folosință utilizate pentru manipulare trebuie eliminate în recipiente ad-hoc destinate incinerării.
10. Reactivii și deșeurile trebuie eliminați în conformitate cu cerințele locale.

CLASIFICAREA RISCURILOR ÎN SISTEMUL GHS

Nu este clasificat ca periculos



Fișă tehnică de securitate este disponibilă la beckman.com/techdocs

DEPOZITAREA ȘI STABILITATEA

Înainte și după desigilarea fiolei, acest reactiv trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8°C într-un loc ferit de lumină.

Perioada de valabilitate în fiolă închisă în conformitate cu studiul de stabilitate: 730 zile.

Stabilitatea fiolei desigilate: reactivul este stabil timp de 180 (de) zile.

DOVADĂ DE DETERIORARE

Orice modificare a aspectului fizic al reactivilor poate indica degradarea. În acest caz, nu se recomandă utilizarea reactivului.

Pentru informații suplimentare sau dacă s-a primit un produs deteriorat, sunați la Serviciul Clienti Beckman Coulter la 800-742-2345 (SUA sau Canada) sau contactați-vă reprezentantul Beckman Coulter local.

CONTINUT

Azida de sodiu folosită drept conservant poate forma compuși cu risc de explozie în conductele de drenaj metalice. Consultați buletinul informativ al NIOSH: Explosive Azide Hazard (Azidă cu risc de explozie) (08/16/76).

Pentru a evita posibila acumulare de compuși de azidă, spălați cu apă conductele pentru evacuarea deșeurilor după eliminarea reactivului nediluat. Eliminarea azidei de sodiu trebuie realizată în conformitate cu reglementările locale aplicabile.

MATERIALE NECESARE, DAR NEFURNIZATE CU SETUL:

- Eprubete pentru probe și materiale necesare pentru prelevarea probelor.
- Pipete automate cu vârfuri de unică folosință pentru 10, 100 și 500 µL.
- Eprubete din plastic pentru hemoliză.
- Pentru rezultate optime, sunt recomandați oricare dintre următorii reactivi (respectați procedura specifică respectivă):
 - Reactiv IntraPrep de fixare/permeabilizare (REF A07802 sau A07803)
 - Set PerFix-nc (test fără centrifugare), pentru prepararea colorării intra- și extra-celulare (REF B31167 sau B31168)
 - Reactiv de fixare a leucocitelor. De exemplu: Soluție de fixare IOTest 3 (ref. A07800).
 - Ser de control izotipic APC: Reactiv IOTest (ref. IM2475).
 - Soluție tampon (PBS: 0,01 mol de fosfat de sodiu; 0,145 mol de clorură de sodiu; pH 7,2).
 - Centrifugați.
 - Agitator automat (tip Vortex).
 - Citometru de flux.

PROCEDURĂ CU REACTIV PERFIX-NC

Mai jos este prezentată procedura recomandată pentru a fi utilizată împreună cu setul PerFix-nc (setul de test fără centrifugare) în vederea preparării colorării intra- și extra-celulare (ref. B31167 sau B31168).

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. IM2475).

Prepararea reactivului pentru set

Reactivi PerFix-nc Tampon 1 și 2

Nu este necesară reconstrucția. Ambii reactivi pot fi folosiți direct din fiolă.

Preparare reactiv PerFix-nc Tampon 3

Preparați extemporaneu reactivul final 1X.

Diluați soluția tampon 3 de PerFix-nc concentrat 10X (soluție finală 10X) în apă deionizată: 1 volum de soluție tampon 3 la 9 volume de apă. Amestecați bine înainte de utilizare. Recomandăm să preparați doar volumul de reactiv final 1X necesar pentru experimentele din ziua respectivă.

1. Picurați 50 µL de probă de sânge pe fundul fiecărei eprubete etichetate corespunzător. Evitați să picurați sângele pe marginea eprubetei, pentru a evita tratarea incorectă a acestuia.
2. Pipetați 5 or 25 µL de reactiv de fixare în fiecare eprubetă, în funcție de ce nivel de fixare, redusă sau ridicată, este necesar (consultați instrucțiunile de utilizare ale PerFix-nc pentru detalii privind protocoalele de fixare redusă/ridicată).
3. Amestecați imediat și incubați timp de 15 min la temperatură camerei (18–25°C).

- Amestecați din nou sângele și adăugați 300 µl de reactiv de permeabilizare în fiecare eprubetă; amestecați imediat.
- Adăugați imediat în fiecare eprubetă 10 µl de anticorpi fluorocrom conjugați cu epitopi intracelulari și molecule de suprafață (sau anticorpii pot fi amestecați în prealabil în reactivul de permeabilizare și adăugați împreună la sfârșitul etapei de fixare).
- Amestecați imediat și incubați timp de 15–30 minute la temperatura camerei.
- Adăugați în fiecare eprubetă 3 ml de reactiv final 1X (preparat din soluție finală concentrată 10X); amestecați imediat; proba este acum pregătită pentru analiză pe un citometru de flux.

OBSERVAȚIE: Preparatele pot fi depozitate timp de 24 de ore înainte de analiza citometrică. Se recomandă depozitarea lor la 2–8°C, într-un loc ferit de lumină.

PROCEDURA CU REACTIVUL INTRAPREP

Procedura recomandată pentru utilizare cu reactivul IntraPrep de fixare/permeabilizare (REF A07802 sau A07803).

Pentru fiecare probă analizată, în afară de eprubeta de testare, poate fi adăugată o eprubetă de ser de control în care celulele sunt amestecate în prezența serurilor de control izotipic (ref. IM2475).

Pentru o probă de sânge, colorarea optimă se obține folosind un număr de leucocite între 3 și 10×10^3 celule/µl. În cazul în care concentrația de leucocite este mai mare de 10×10^3 celule/µl, diluați (11).

- Adăugați 50 µl de sânge eșantionat în EDTA în fiecare eprubetă.
- Adăugați în fiecare eprubetă 100 µl de reactiv 1 IntraPrep (fixare)
- Amestecați bine eprubetele în agitatorul vortex timp de 3–5 secunde.
- Incubați timp de 15 minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
- Adăugați 4 ml de PBS în fiecare eprubetă.
- Centrifugați timp de 5 minute la 300 x g la temperatura camerei. Îndepărtați supernatantul prin aspirare.
- Adăugați în fiecare eprubetă 100 µl de reactiv 2 IntraPrep (permeabilizare). Lăsați să se amestece prin difuzie. NU AMESTECAȚI ÎN AGITATORUL VORTEX.
- Incubați timp de 5 minute la temperatura camerei înainte de scuturare.
- Scuturăți eprubetele manual cu atenție timp de 2–3 secunde.
- Adăugați 10 µl de anticorp conjugat IOTest specific în fiecare eprubetă de test și, dacă este necesar, 10 µl de ser de control izotipic în fiecare eprubetă cu ser de control.
- Incubați timp de 15–20 de minute la temperatura camerei (18–25°C) într-un loc ferit de lumină.
- Adăugați 4 ml de PBS și centrifugați 300 x g timp de 5 minute la temperatura camerei.
- Îndepărtați supernatantul prin aspirare și suspenzați din nou peleta de celule în 0,5–1 ml de soluție de fixare IOTest 3 (Ref. A07800) la concentrația de lucru (1X).
- Preparatele sunt pregătite pentru analiză citometrică.

OBSERVAȚIE: Dacă preparatele trebuie depozitate stocate mai mult de 2 ore înainte de analiza citometrică, se recomandă depozitarea lor la 2–8°C, într-un loc ferit de lumină. Preparatele astfel depozitate nu trebuie păstrate însă mai mult de 24 de ore.

VALORI PRECONIZATE

În laboratoarele noastre, probele de sânge integral de la 25 donatori aparent sănătoși au fost tratate utilizându-se reactivul descris mai sus. Rezultatele obținute pentru numărul de evenimente pozitive de interes cu acest reactiv sunt date în tabelul de mai jos:

Sistem de lizare PerFix-nc:

Tinta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	10,98	4,13	37,60

Sistem de lizare IntraPrep:

Tinta pozitivă	Număr	Medie (%)	SD (deviație standard)	CV (%)
Limfocite	25	10,02	4,03	40,19

Aceste valori au doar caracter exemplificativ. Fiecare laborator trebuie să stabilească propriile valori așteptate de la populația locală de donatori normali.

PERFORMANȚĂ

Datele de performanță se obțin folosindu-se procedeul descris mai sus pe probe de sânge cu o vechime mai mică de 24 de ore recoltate anterior în eprubete sterile cu sare EDTA ca anticoagulant. Analiza se efectuează în decurs de 2 ore de la imunicolorare.

SPECIFICITATE

Molecula CD79a face parte din grupul heterodimerilor CD79a/CD79b legați cu disulfură, care sunt legați necovalent la imunoglobulinele de suprafață pentru a forma receptorii de celule B (BCR) (12). Prezența CD79a se manifestă timpuriu în ontogenia celulelor B, iar localizarea ei în etapa pro-B este prin urmare citoplasmică. Ulterior, molecula CD79a face parte din BCR. Prezența ei în membrană persistă până în etapa plasmocitică, în care localizarea ei revine la citoplasmică (13).

MAb HM47 reacționează cu un epitop intracitoplasmic al moleculei CD79a (13). El a fost atribuit moleculei CD79a la 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (al 5-lea simpozion HLDA pentru antigenii umani de diferențiere a leucocitelor), organizat la Boston, SUA; în 1993 (cod WS: cB017, Secțiunea B) (13).

PRECIZIE

Valorile procentuale pozitive au fost stabilite folosind sânge integral. Fiecare probă a fost analizată de 4 ori, de două ori pe zi timp de 1 zi, pe 2 instrumente, folosind 2 loturi de reactivi cu anticorp monoclonal CD79a-APC. Măsurătorile (% pozitive) au fost efectuate pe un citometru în flux Navios. Analiza a fost efectuată în conformitate cu metoda CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluarea performanței de precizie a metodelor de măsurare cantitativă).

Criteriile noastre de acceptare depind de numărul de evenimente pozitive măsurate pentru fiecare populație:

- Dacă evenimentul pozitiv < 1500, CV < 15%
- Dacă evenimentul pozitiv > 1500, CV < 10%

Sistem de lizare PerFix-nc:

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 1026							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistem de lizare IntraPrep:

Limfocite							
Număr de evenimente pozitive (medie) = 880							
	Inter-operator	Inter-citometru	Intra-lot	Inter-lot	Inter-ciclu	Intra-testare	Total
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
REZULTATE	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ACURATEȚE

Acuratețea CD79a-APC a fost evaluată prin compararea rezultatelor cu un reactiv de referință ca predicat pe un set de probe de sânge integral analizate cu un citometru în flux Navios. Eroarea sistematică dintre test și reactivul de referință a fost determinată în funcție de diferență dintre rezultatele testului. Dacă eroarea sistematică se încadrează în intervalul de eroare permis sau dacă valoarea p nu indică o diferență semnificativă ($> 0,05$), rezultatele testului pentru cei doi reactivi sunt considerate ca fiind echivalente.

Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul de mai jos:

Sistem de lizare PerFix-nc:

Număr de donatori = 25				
Tinta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	0,32	<3	0,005	PASS

Sistem de lizare IntraPrep:

Număr de donatori = 25				
Tinta pozitivă	Medie Δ	Criterii celulă Δ%	Valoarea p	REZULTATE
Limfocite	0,09	<3	0,659	PASS

LIMITA DE BLANC ȘI LIMITA DE DETECȚIE

A fost realizat un studiu în conformitate cu documentul CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluarea capacitatei de detecție în cazul procedurilor de măsurare din laborator). Limita de detecție (LOD) este cea mai redusă concentrație de analit care poate fi detectată în mod constant. Rezultatele obținute sunt rezumate în tabelul următor:

Sistem de lizare PerFix-nc:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	0	4

Sistem de lizare IntraPrep:

Positive Target	Limită de blanc (celulă/µl)	Limită de detecție (celulă/µl)
Limfocite	1	2

LIMITĂRI

1. Citometria în flux poate furniza rezultate false dacă citometrul nu a fost aliniat perfect, dacă surgerile de fluorescentă nu au fost compensate corect și dacă regiunile nu au fost poziționate corect.
2. Se vor obține rezultate corecte și reproductibile dacă procedurile utilizate respectă prospectul tehnic și bunele practici de laborator.
3. Anticorpul conjugat din acest reactiv este calibrat astfel încât să ofere cel mai bun raport semnal specific/semnal nespecific. Prin urmare, este important ca la fiecare test să se respecte raportul volum de reactiv/volum de probă.
4. În cazul unei hiperleucocitoze, diluați sângele în PBS astfel încât să obțineți o valoare de aproximativ 5×10^9 leucocite/l (11).
5. În anumite stări patologice, cum ar fi insuficiența renală severă sau hemoglobinopatiile, liza eritrocitelor poate fi lentă, incompletă sau chiar imposibilă. În acest caz, se recomandă izolarea celulelor mononucleare cu ajutorul unui gradient de densitate (de exemplu, Ficoll), înainte de colorare (14).
6. În cazul pacienților tratați cu terapii cu anticorp monoclonal anti-uman, detecția antigenilor specifici țintiți poate fi diminuată sau absentă din cauza blocării parțiale sau complete asigurată de anticorpul terapeutic.
7. Rezultatele CD79a-APC trebuie interpretate în lumina prezentării clinice integrale a pacientului, inclusiv: simptome, istoric clinic, date din teste suplimentare și alte informații corespunzătoare.

Consultați Anexa pentru exemple și referințe.

MĂRCI COMERCIALE

Beckman Coulter, logoul stilizat și mărcile de produse și servicii Beckman Coulter menționate aici sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Beckman Coulter, Inc. în Statele Unite și în alte țări.

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

În cazul unui pacient/utilizator/terț aflat în Uniunea Europeană sau în țări cu un regim de reglementare identic (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, are loc un incident grav, raportați acest incident către producător și/sau reprezentantul său autorizat și către autoritatea națională din țara dvs.

Rezumatul secțiunilor Siguranță și Performanță este disponibil din baza de date EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORICUL REVIZUIRILOR

REVIZIA AC:	Data publicării: Octombrie 2019
REVIZIE	Data publicării
AW	Februarie 2022
Se actualizează pentru a respecta politica globală de etichetare Beckman Coulter și cerințele regulamentului IVD-R (UE) 2017/746:	
Secțiuni adăugate	Număr BSI 2797, Utilizator propus, Relevanță clinică, Concentratie, Precenzie, Acuratețe, Limita de blanc și limita de detectie, Informații suplimentare, Istoric revizuirii.
Informații adăugate	Consultați secțiunile Limitări
Actualizări referitoare la frazare și tipografice	Consultați secțiunile Procedură, Performanță, Limitări, Avertizări și măsuri de precauție, Depozitare și stabilitate.
Secțiuni eliminate	Exemplu de utilizări clinice, Reactivi, Reproductibilitate intralaborator, Liniaritate
Secțiuni actualizate	Utilizare propusă, Clasificarea riscurilor în sistemul GHS, Dovadă de deteriorare, Procedură, Anexă.
REVIZIE	Data publicării
AX	
Secțiuni actualizate	A fost adăugată limba kazahă
Secțiuni actualizate	Depozitare și stabilitate

Cheie simboluri

Glosarul de simboluri este disponibil la beckman.com/techdocs (număr document B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD79a
Klon	HM47
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulin	IgG1
Vrsta	Miš
Prečiščevanje	Afinitetna kromatografija
Fluorokrom	Allophycocyanin (APC)
Molarno razmerje	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	633/638 nm
Vršna vrednost emisij	660 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA in 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugirano protitelo

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testov; 1 ml, 10 µl/test

Za diagnostično uporabo *in vitro*

NAMEN UPORABE

To protitelo, konjugirano s fluorokromi, omogoča kvalitativno in neavtomatizirano identifikacijo celičnih populacij, ki izražajo antigen CD79a, prisoten v človeških bioloških vzorcih, z uporabo pretočne citometrije (oglejte si poglavje »Vzorci« spodaj).

NAČELO

Ta test temelji na sposobnosti specifičnih monoklonskih protiteles, da se vežejo na antigenske determinante, ki jih izražajo levkociti.

V citoplazemskih membranah levkocitov se inducira prepustnost, da bi se prikazalo znotrajcelične antigenske determinante s pomočjo monoklonskih fluorescenčnih protiteles. Levkocite lahko nato analiziramo s pretočno citometrijo.

Pretočni citometer meri difuzijo svetlobe in fluorescenco celic. Omogoča razmejitev opazovane populacije v elektronskem oknu, opredeljenem v histogramu, ki je povezan z ortogonalno difuzijo svetlobe (stransko sisanje ali SS) in difuzijo svetlobe pri majhnemu kotu (sisanje naprej ali FS). Glede na uporabo, ki jo izbere uporabnik, lahko druge histograeme, ki uporabljajo kombinacijo dveh različnih parametrov, ki so na voljo na citometru, uporabimo kot nosilce v fazi uokvirjanja.

Fluorescenco razmejenih celic analiziramo z namenom razlikovanja med pozitivno obarvanimi dogodki in tistimi, ki niso obarvani. Rezultati so izraženi kot odstotek pozitivnih dogodkov glede na vse dogodke, pridobljene z uokvirjanjem.

PREDVIDENI UPORABNIK

Izdelek je namenjen profesionalni laboratorijski uporabi.

KLINIČNI POMEN

CD79a-APC je protitelo CD79a, ki se uporablja za identifikacijo in karakterizacijo celic, ki izražajo antigen CD79a s pomočjo pretočne citometrije. Ta izdelek sam ne more ustvariti in ni namenjen za ustvarjanje kakršnih koli diagnostičnih zaključkov.

Če se izdelek uporablja v kombinaciji z drugimi označevalci, se lahko uporablja v eni ali več naslednjih funkcij:

- Uporablja se kot pripomoček pri diferencialnem diagnosticiranju hematološko neobičajnih bolnikov, pri katerih obstaja sum, da imajo hematopoetsko neoplazmo, in za spremljanje bolnikov z znano hematopoetsko neoplazmo.

Oglejte si naslednje reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

VZORCI

Pri jemanju venske krvi je treba uporabiti sterilne epruvete, ki vsebujejo sol EDTA kot antikoagulant.

Vzorce je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–25 °C) in jih ni dovoljeno pretresati. Vzorce je treba homogenizirati z rahlim stresanjem pred odvzemom testnega vzorca.

Vzorce je treba analizirati v 24 urah po venepunkciji.

KONCENTRACIJA

Oglejte si ustrezni certifikat o analizi za izbrano serijo na spletni strani www.beckman.com.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

1. Ne uporabljajte reagenta po izteku roka uporabnosti.
2. Ne zamrzujte.
3. Pred uporabo počakajte, da se ogrejejo na sobno temperaturo (18–25 °C).
4. Čim manj izpostavljajte svetlobi.
5. Preprečite mikrobnino kontaminacijo reagentov, sicer lahko pride do napačnih rezultatov.
6. Z raztopinami protiteles, ki vsebujejo natrijev azid (NaN₃), je treba ravnati previdno. Ne zaužijte in se izogibajte vsakršnemu stiku s kožo, sluznicami in očmi.

Poleg tega lahko natrijev azid v kislem mediju tvori potencialno nevaren vodikov azid. Če ga je treba odstraniti, je reagent priporočljivo razredčiti z veliko količino vode pred izlivanjem v kanalizacijo, da bi se izognili kopičenju natrijevega azida v kovinskih ceveh in preprečili nevarnost eksplozije.

7. Vse vzorce krvi je treba obravnavati kot potencialno kužne in je treba z njimi ravnati previdno (predvsem je treba nositi zaščitne rokavice, halje in očala).
8. Nikoli ne pipetirajte z ustimi in se izogibajte vsakršnemu stiku vzorcev s kožo, sluznico in očmi.
9. Epruvete za kri in material za enkratno uporabo je treba odstraniti v zabojnike na licu mesta, namenjene sežigu.
10. Reagente in odpadke je treba odstraniti skladno z lokalnimi predpisi.

KLASIFIKACIJA NEVARNOSTI PO GHS

Ni razvrščeno kot nevarno



Varnostni list je na voljo na spletnem mestu beckman.com/techdocs

SHRANJEVANJE IN OBSTOJNOST

Ta reagent je treba shranjevati pri temperaturi od 2 do 8 °C in zaščiteni pred svetlobo pred odprtjem vial in po njem.

Rok uporabnosti zaprte viale po študiji stabilnosti: 730 dni.

Stabilnost odprte stekleničke: reagent je stabilen 180 dni.

DOKAZ O POSLABŠANJU STANJA

Vsaka sprememba fizičnega videza reagentov lahko kaže na poslabšanje stanja in reagenta ni dovoljeno uporabljati.

Za dodatne informacije ali ob prejemu poškodovanega izdelka pokličite službo za pomoč strankam družbe Beckman Coulter na številko 800-742-2345 (ZDA ali Kanada) ali se obrnite na lokalnega predstavnika podjetja Beckman Coulter.

VSEBINA

Konzervans iz natrijevega azida lahko tvori eksplozivne spojine v kovinskih odvodnih ceveh. Oglejte si NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (16. 8. 76) (Nevarnost eksplozivnih azidov).

Da bi se izognili morebitnemu kopičenju azidnih spojin, po odstranjevanju nerazredčenega reagenta sperite odtočne cevi z vodo. Odstranjevanje natrijevega azida mora biti skladno z ustreznimi lokalnimi predpisi.

POTREBEN MATERIAL, KI NI PRILOŽEN V KOMPLETU:

- Epruvete za vzorčenje in material, potreben za vzorčenje.
- Samodejne pipete s konicami za enkratno uporabo za 10, 100 in 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizo.
- Za optimalne rezultate je priporočljiva uporaba katerega koli od naslednjih reagentov (sledite povezanemu posebnemu postopku):
Reagent za fiksacijo/permeabilizacijo IntraPrep (REF A07802 ali A07803)
Komplet PerFix-nc (komplet za teste brez centrifuge) za znotraj- in zunajcelične pripravke za barvanje (REF B31167 ali B31168).
- Reagent za fiksacijo levkocitov. Na primer: fiksirna raztopina IOTest 3 (Ref. A07800).
- Izotipska kontrola APC: Reagent IOTest (Ref. IM2475).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijev fosfat; 0,145 M natrijev klorid; pH 7,2).
- Centrifugirajte.
- Samodejni stresalnik (za stresanje).
- Pretočni citometer.

POSTOPEK Z REAGENTOM PERFIX-NC

V nadaljevanju je napisan priporočeni postopek za uporabo skupaj s kompletom PerFix-nc (komplet za preizkuse brez centrifuge) za znotraj- in zunajcelične pripravke za barvanje (ref B31167 ali B31168).

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. IM2475).

Komplet za pripravo reagenta

Pufer 1 za PerFix-nc in 2 reagenta

Rekonstitucija ni potrebna. Oba reagenta lahko uporabimo neposredno iz viale.

Pufer 3 za PerFix-nc, priprava reagenta

Enkratni reagent 1X za končno obdelavo pripravite za vsak primer posebej.

10-kratno koncentracijo pufra 3 PerFix-nc (končna raztopina 10X) raztopite v deionizirani vodi: 1 del pufra 3 z 9 deli vode. Pred uporabo dobro zmešajte. Priporočljivo je pripraviti samo tisto količino reagenta 1X za končno obdelavo, ki ga potrebujemo za izvedbo dnevnih testov.

1. 50 µl vzorca krvi pipetirajte na dno vsake ustrezno označene epruvete. Izogibajte se pipetiranju dela krvi na steno epruvete, saj v tem primeru ne bo ustrezno obdelana.
2. Pipetirajte 5 or 25 µl reagenta za fiksiranje v vsako epruveto, odvisno od tega, ali je potrebno blago ali močno fiksiranje (za podrobnosti o protokolu blagega/močnega fiksiranja si oglejte navodila za uporabo reagenta PerFix-nc).
3. Takoj vrtinčite in inkubirajte 15 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C).
4. Fiksirano kri vrtinčite še enkrat in v vsako epruveto dodajte 300 µl reagenta za permeabilizacijo; zvrtinčite takoj.

- V vsako epruveto takoj dodajte 10 µl protiteles, konjugiranih s fluorokromi, proti znotrajceličnim epitopom in površinskim molekulam (protitelesa lahko tudi predhodno zmešamo v reagent za permeabilizacijo in vse skupaj dodamo na koncu postopka za fiksacijo).
- Tako vrtinčite in inkubirajte 15–30 minut pri sobni temperaturi.
- V vsako epruveto dodajte 3 ml enkratnega reagenta 1X za končno obdelavo (pripravljenega iz desetkratne koncentracije raztopine 10X za končno obdelavo); nemudoma zvtinčite; vzorec je zdaj pripravljen za analizo s pretočnim citometrom.

OPOMBA: reparate je mogoče hraniti 24 ur pred citometrično analizo in jih je priporočljivo hraniti pri temperaturi 2–8 °C ter zaščititi pred svetlobo.

POSTOPEK Z REAGENTOM INTRAPREP

Spodaj je naveden priporočeni postopek za uporabo z reagentom za fiksacijo/permeabilizacijo IntraPrep (REF A07802 ali A07803).

Za vsak analizirani vzorec lahko poleg testne epruvete dodamo še kontrolno epruveto, v kateri so celice pomešane v prisotnosti izotipskih kontrol (Ref. IM2475).

Pri vzorcu krvi je optimalno obarvanje pri uporabi med 3 do 10×10^3 celic levkocitov/µl. Če je koncentracija levkocitov večja od 10×10^3 celic/µl, jo razredčite (11).

- Dodajte 50 µl krvi, vzorčene v EDTA, v vsako epruveto.
- V vsako epruveto dodajte 100 µl reagenta 1 IntraPrep (za fiksacijo).
- Epruvete energično stresajte 3 do 5 sekund.
- Inkubirajte ga 15 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
- V vsako epruveto dodajte 4 ml PBS.
- Centrifugirajte 5 minut pri $300 \times g$ na sobni temperaturi. Supernatant odstranite z aspiracijo.
- V vsako epruveto dodajte 100 µl reagenta 2 IntraPrep (za permeabilizacijo). Pustite, da se zmeša z difuzijo. NE STRESAJTE.
- Inkubirajte 5 minut pri sobni temperaturi brez tresenja.
- Epruvete previdno in ročno stresajte 2 do 3 sekunde.
- V vsako testno epruveto dodajte 10 µl konjugiranih protiteles IOTest, po potrebi pa 10 µl izotipske kontrole v vsako kontrolno epruveto.
- Inkubirajte ga 15 do 20 minut pri sobni temperaturi (18–25 °C), zaščitenega pred svetlobo.
- Dodajte 4 ml PBS in centrifugirajte 5 minut pri $300 \times g$ na sobni temperaturi.
- Supernatant odstranite z aspiracijo in celično usedlino znova suspendirajte z uporabo 0,5 ml do 1 ml fiksirne raztopine IOTest 3 (ref. A07800) pri njeni delovni koncentraciji (1-kratni).
- Preparati so pripravljeni za citometrično analizo.

OPOMBA: če je treba preparate pred citometrično analizo hraniti več kot 2 uri, jih je priporočljivo hraniti pri temperaturi 2–8 °C in zaščititi pred svetlobo. Kljub temu pa tako shranjenih preparatov ne hranite dlje kot 24 ur.

PRIČAKOVANE VREDNOSTI

V naših laboratorijih smo z zgoraj opisanim reagentom obdelali vzorce polne krvi 25 na videz zdravih darovalcev. Rezultati, pridobljeni s štetjem pozitivnih dogodkov, ki nas zanimajo v zvezi s tem reagentom, so navedeni v spodnjih preglednicah:

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	10,98	4,13	37,60

Sistem za liziranje IntraPrep:

Pozitivna tarča	Številka	Povprečje (%)	SD (SO)	CV (%)
Limfociti	25	10,02	4,03	40,19

Te vrednosti so zgolj reprezentativne. Vsak laboratorij mora določiti lastne pričakovane vrednosti za lokalno populacijo običajnih darovalcev.

USPEŠNOST

Podatke o zmogljivosti pridobimo z zgoraj opisanim postopkom na vzorcih krvi, starih manj kot 24 ur, ki so bili predhodno zbrani v sterilnih epruvetah s soljo EDTA kot antikoagulantom. Analizo se izvede v 2 urah po imunohistokemičnem barvanju.

SPECIFIČNOST

Molekula CD79a je del z disulfidom povezanega heterodimerja CD79a/CD79b, ki se nekovalentno veže na površinske imunoglobuline in tako ustvari B-celične receptorje (BCR) (12). Izražanje molekule CD79a se pojavlja v zgodnjih ontogenetskih fazah celic B, zato je njen pojav v fazah progeničnih limfocitov B citoplazemske narave. Pozneje postane molekula CD79a del receptorjev BCR. Njeno membransko izražanje ostane prisotno do plazmocitne faze, v kateri se znova izraža citoplazemsko (13).

Mab HM47 reagira z znotrajcitoplazemskim epitopom molekule CD79a (13). Molekuli CD79a je bil dodeljen med 5. delavnico HLDA o antigenih za diferenciacijo človeških levkocitov v Bostonu, ZDA, leta 1993 (koda WS: cb017, razdelek B) (13).

NATANČNOST

Odstotke pozitivnih vrednosti smo določili z uporabo polne krvi. Vsak vzorec je bil obravnavan 4-krat, dvakrat dnevno 1 dan na 2 napravah z uporabo 2 serij reagentov z monoklonalskimi protitelesi CD79a-APC. Meritve (% pozitivnih) so bile opravljene na pretočnem citometru Navios. Analiza je bila izvedena na podlagi metode CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Vrednotenje natančnosti kvantitativnih merilnih metod).

Naša merila sprejemljivosti so odvisna od števila pozitivnih dogodkov, izmerjenih za vsako populacijo:

- Če je pozitiven dogodek < 1.500, je CV < 15 %

- Če je pozitiven dogodek > 1.500, je CV < 10 %

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 1026							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistem za liziranje IntraPrep:

Limfociti							
Število pozitivnih dogodkov (povprečje) = 880							
	Med upravljavci	Med citometri	Znotraj serije	Med serijami	Med postopki	Znotraj postopka	Skupaj
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TOČNOST

Točnost CD79a-APC smo ocenili s primerjavo rezultatov z referenčnim reagentom kot reagentom s potrjeno skladnostjo na nizu vzorcev polne krvi, obdelane na pretočnem citometru Navios. Odstopanje med testnim in referenčnim reagentom je bilo določeno na podlagi razlike med rezultati testa. Če je odstopanje znotraj dovoljenega območja napake ali vrednost p ne kaže pomembne razlike (> 0,05), se rezultati testov za oba reagenta štejejo za enakovredne.

Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	0,32	<3	0,005	PASS

Sistem za liziranje IntraPrep:

Število darovalcev = 25				
Pozitivna tarča	Povprečje Δ	Δ % celičnega kriterija	vrednost p	REZULTATI
Limfociti	0,09	<3	0,659	PASS

MEJA SLEPEGA VZORCA IN MEJA ZAZNAVANJA

Študija je bila izvedena skladno z metodo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Ocena zmogljivosti zaznavanja za merilne postopke v kliničnih laboratorijih). Meja zaznavanja (LOD) je najnižja koncentracija analita, ki jo je mogoče dosledno zaznati. Dobljeni rezultati so povzeti v naslednji preglednici:

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	0	4

Sistem za liziranje IntraPrep:

Positive Target	Meja slepega vzorca (celic/µl)	Meja zaznavanja (celic/µl)
Limfociti	1	2

OMEJITVE

- S pretočno citometrijo lahko pride do napačnih rezultatov, če citometer ni bil točno nameščen, če puščanje fluorescence ni bilo ustrezno izravnano in če območja niso bila natančno pozicionirana.
- Točne in ponovljive rezultate se bo doseglo, če se bo uporabilo postopke, ki so skladni s priloženim tehničnim listom in z načeli dobre laboratorijske prakse.
- Konjugirano protitelo tega reagenta je umerjeno, tako da zagotavlja najboljše razmerje med specifičnim/nespecifičnim signalnim razmerjem. Zato je pomembno, da pri vsakem testu upoštevamo razmerje med količino reagenta/količino vzorca.
- V primeru hiperlevkocitoze razredčite kri v PBS, da se tako dobi vrednost približno 5×10^9 levkocitol/l (11).
- Pri nekaterih bolezenskih stanjih, kot je huda ledvična odpoved ali hemoglobinopatije, je lahko liza rdečih krvničk počasna, nepopolna ali celo nemogoča. V tem primeru je priporočljivo izolirati mononuklearne celice z uporabo gradienta gostote (na primer Ficoll) pred barvanjem (14).
- Pri bolnikih, ki se zdravijo s terapijo z antihumanimi monoklonskimi protitelesi, je lahko odkrivanje specifičnih ciljnih antigenov zmanjšano ali pa ga sploh ni zaradi delnega ali popolnega blokiranja s strani terapevtskega protitelesa.
- Rezultate CD79a-APC je treba razlagati v luči celotne klinične slike bolnika, vključno s: simptomi, anamnezo, podatki dodatnih testov in drugimi ustreznimi podatki.

Primere in reference si oglejte v prilogi.

BLAGOVNE ZNAMKE

Beckman Coulter, stiliziran logotip ter znamke izdelkov in storitev podjetja Beckman Coulter, omenjene v tem dokumentu, so blagovne znamke ali registrirane blagovne znamke podjetja Beckman Coulter, Inc. v Združenih državah Amerike in drugih državah.

DRUGI PODATKI

Za bolnike/uporabnike/tretje osebe v Evropski uniji in v državah z enakim regulativnim režimom (Uredba 2017/746/EU o medicinskih pripomočkih za in vitro diagnostiko): če med uporabo tega pripomočka ali kot rezultat njegove uporabe pride do resnega incidenta, o tem poročajte proizvajalcu in/ali njegovemu pooblaščenemu predstavniku in svojemu nacionalnemu organu.

Summary of Safety and Performance (Povzetek o varnosti in zmogljivosti) je na voljo v bazi podatkov EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ZGODOVINA REVIZIJ

REVIDIRANA IZDAJA AC:	Datum izdaje:
	Oktober 2019

REVIZIJA	Datum izdaje
AW	Februar 2022
Posodobitve za skladnost z globalno politiko označevanja Beckman Coulter in v skladu z zahtevami IVD-R (EU) 2017/746:	
Dodana poglavja	Številka BSI 2797, predvideni uporabnik, klinični pomen, koncentracija, točnost, natančnost, meja slepega vzorca in meja zaznavanja, dodatne informacije, zgodbina revizij.
Dodatne informacije	Oglejte si poglavja Omejitve
Izrazne ali tipografske posodobitve	Oglejte si poglavja Postopek, Zmogljivost, Omejitve, Opozorila in previdnostni ukrepi, Shranjevanje in stabilnost.
Odstranjena poglavja	Primer klinične uporabe, reagenti, ponovljivost znotraj laboratorija, linearnost
Posodobljena poglavja	Predvidena uporaba, Klasifikacija nevarnosti po GHS, Dokaz o poslabšanju stanja, Postopek, Priloga.

REVIZIJA	Datum izdaje
AX	
Posodobljena poglavja	Dodaj kazačino
Posodobljena poglavja	Shranjevanje in stabilnost

Seznam simbolov

Glosar simbolov je na voljo na beckman.com/techdocs (številka dokumenta B60062)

	Specifikacije
Specifičnost	CD79a
Klon	HM47
Hibridom	NS1 x balb/c
Imunogen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulin	IgG1
Vrste	Miš
Prečiščavanje	Afinitetna hromatografija
Fluorohrom	Allophycocyanin (APC)
Molarni odnos	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ ekscitacija	633/638 nm
Vršna vrednost emisije	660 nm
Pufer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/ml BSA i 0,1% NaN ₃

IOTest

Konjugovano antitelo

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testovi; 1 ml, 10 µl / test

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

NAMENA

Ovo fluorohromno-konjugovano antitelo omogućava kvalitativnu i neautomatizovanu identifikaciju čelijskih populacija koje eksprimiraju CD79a antigen prisutnih u humanim biološkim uzorcima pomoću protočne citometrije (pogledati odeljak „Uzorci“ u nastavku).

PRINCIP

Ovaj test se zasniva na sposobnosti određenih monoklonskih antitela da se vežu za antigenske determinante eksprimirane leukocitima.

Propustljivost se izaziva u citoplazmatskim membranama leukocita radi demonstracije intracelularnih antigenskih determinanti pomoću monoklonskih fluorescentnih antitela. Leukociti se zatim analiziraju protočnom citometrijom.

Protočni citometar meri difuziju svetlosti i fluorescenciju ćelija. On omogućava razgraničenje populacije od interesa u okviru elektronskog prozora definisanog na histogramu, što je u korelaciji sa ortogonalnom difuzijom svetlosti (bočno rasejanje ili SS) i difuzijom uskougaone svetlosti (prednje rasejanje ili FS). Drugi histogrami koji kombinuju dva različita parametra koja postoje na citometru mogu se koristiti kao podrška u fazi regulacije, u zavisnosti od primene koju je korisnik odabrao.

Fluorescencija ograničenih ćelija se analizira kako bi se razlikovali pozitivno obojeni događaji od neobojenih događaja. Rezultati su prikazani kao procenat pozitivnih događaja u odnosu na sve događaje dobijene regulacijom.

PREDVIĐENI KORISNIK

Ovaj proizvod je namenjen za stručnu upotrebu u laboratoriji.

KLINIČKI ZNAČAJ

CD79a-APC predstavlja CD79a antitelo korišćeno za identifikovanje i karakterizaciju ćelija koje eksprimiraju CD79a antigen pomoću protočne citometrije. Ovaj proizvod sam po sebi ne može da se koristi i nije namenjen za donošenje bilo kog dijagnostičkog zaključka.

Kada se koristi u kombinaciji sa drugim markerima, ovaj proizvod može da se koristi kod jedne ili više od sledećih funkcija:

- Kao pomoć u diferencijalnoj dijagnozi hematološki abnormalnih pacijenata za koje se sumnja da imaju hematopoetsku neoplazmu i za nadgledanje pacijenata sa poznatom hematopoetskom neoplazmom.

Pogledajte sledeće reference:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

UZORCI

Uzorci iz venske krvi moraju se uzimati sterilnim epruvetama koje sadrže EDTA so kao antikoagulans.

Uzorke treba čuvati na sobnoj temperaturi (18–25°C) i ne tresti. Uzorke treba pre uzimanja uzorka za testiranje homogenizovati blagim mešanjem.

Uzorci se moraju analizirati u roku od 24 sati od venepunkcije.

KONCENTRACIJA

Pogledajte dokument „Certificate of Analysis“ (Sertifikat analize) za određeni lot na veb-sajtu www.beckman.com.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

1. Ne koristite reagense nakon isteka roka trajanja.
2. Ne zamrzavajte.
3. Pre upotrebe sačekajte da se približi sobnoj temperaturi (18–25°C).
4. Izbegavati izloženost svetlosti.
5. Sprečite mikrobsku kontaminaciju reagenasa ili se mogu javiti netačni rezultati.
6. Rastvorima antitela koji sadrže natrijum azid (NaN₃) treba pažljivo rukovati. Ne uzimajte interno i izbegavajte svaki dodir sa kožom, sluzokožom i očima.

Pored toga, u kiseloj sredini, natrijum azid može formirati potencijalno opasnu hidrazoinsku kiselinu. Ako je potrebno da se odloži u otpad, preporučuje se da se reagens razblaži u velikoj zapremini vode pre sipanja u sistem kanalizacije kako bi se izbeglo taloženje natrijum azida u metalnim cevima i sprečila opasnost od eksplozije.

7. Svi uzorci krvi moraju se smatrati potencijalno infektivnim i njima se mora pažljivo rukovati (posebno: nošenje zaštitnih rukavica, odeće i zaštitnih naočara).
8. Nikada ne pipetirajte ustima i izbegavajte svaki kontakt uzorka sa kožom, sluzokožom i očima.
9. Epruvete za uzorak krvi i potrošni materijal koji je korišćen za rukovanje treba odložiti u ad hoc kontejnere predviđene za spaljivanje.
10. Reagense i otpad treba ukloniti prema lokalnim zahtevima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno



Bezbednosni list je dostupan na adresi beckman.com/techdocs

SKLADIŠENJE I STABILNOST

Ovaj reagens se mora čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i zaštićen od svetlosti, pre i posle otvaranja bočice.

Ispitivanje roka trajanja zatvorene bočice u odnosu na stabilnost: 730 dana.

Stabilnost otvorene bočice: reagens je stabilan 180 dan(a).

DOKAZI POGORŠANJA

Bilo koja promena u fizičkom izgledu reagensa može ukazivati na pogoršanje i reagens ne treba koristiti.

Za dodatne informacije ili ako dobijete oštećen proizvod, pozovite korisnički servis kompanije Beckman Coulter na broj 800-742-2345 (SAD ili Kanada) ili pozovite svog lokalnog predstavnika kompanije Beckman Coulter.

SADRŽAJ

Konzervans sa natrijum azidom može formirati eksplozivna jedinjenja u metalnim odvodnim vodovima. Pogledajte „NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard“ (16.8.76.) (Bilten Nacionalnog instituta za bezbednost i zdravlje na radu: Opasnost od eksplozivnih azida).

Da biste sprečili moguće taloženje jedinjenja azida, isperite cevi za otpad vodom nakon odlaganja u otpad nerazblaženog reagensa. Odlaganje u otpad natrijum azida mora biti u skladu sa odgovarajućim lokalnim propisima.

POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU UZ KOMPLET:

- Epruvete za uzorkovanje i materijal potreban za uzorkovanje.
- Automatske pipete sa nastavcima za jednokratnu upotrebu za 10 100 µl i 500 µl.
- Plastične epruvete za hemolizu.
- Kako bi se dobili najbolji rezultati, preporučujemo bilo koji od sledećih reagensa (sledite odgovarajuću specifičnu proceduru)
IntraPrep reagens za fiksiranje/ permeabilizaciju (Ref. A07802 ili A07803)
PerFix-nc komplet (no centrifuge assay kit), za preparate za unutrašnje i spoljno bojenje ćelija (Ref. B31167 ili B31168)
- Reagens za fiksiranje leukocita. Na primer: IOTest 3 fiksativni rastvor (referentni broj A07800).
- Izotipska kontrola APC: IOTest reagens (referentni broj IM2475).
- Pufer (PBS: 0,01 M natrijum-fosfat; 0,145 M natrijum-hlorid; pH 7,2).
- Centrifuga.
- Automatska mešalica (vrtložnog tipa).
- Protočni citometar.

POSTUPAK SA PERFIX-NC REAGENSOM

U nastavku sledi preporučena procedura za upotrebu sa kompletom PerFix-nc (bez kompleta za analizu centrifuge) za pripremu za unutarćelijsko i vanćelijsko bojenje (Ref. B31167 ili B31168).

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj IM2475).

PRIPREMA REAGENSA IZ KOMPLETA

PerFix-nc pufer 1 i 2 reagensi

Nije potrebna rekonstitucija. Oba reagensa mogu da se koriste direktno iz bočice.

Priprema PerFix-nc bufer 3 reagensa

Pripremite na licu mesta konačni 1X reagens.

Razredite 10X koncentrovani PerFix-nc pufer 3 (konačni 10X rastvor) u dejonizovanoj vodi: 1 zapremina pufera 3 sa 9 zapremine vode. Dobro izmešajte pre upotrebe. Preporučujemo da pripremite samo zapreminu konačnog 1X reagensa neophodnu za eksperimente tokom dana.

1. Nakapajte 50 µl uzorka krvi u dno svake epruvete označene na odgovarajući način. Izbegavajte dodavanje nešto krvi na stranice epruvete; u suprotnom neće biti tretirana na odgovarajući način.
2. Pipetirajte 5 or 25 µl reagensa za fiksiranje u svaku epruvetu za uzorak, u zavisnosti od toga da li je potrebna niska ili visoka fiksacija (detalje o protokolima niske/visoke fiksacije potražite u uputstvu za upotrebu PerFix-nc).
3. Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici 15 minuta na sobnoj temperaturi (18 – 25°C).

- Ponovo izmešajte u vrtložnoj mešalici fiksiranu krv i svakoj epruveti dodajte 300 µl permeabiliziranog reagensa; odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici.
- Odmah svakoj epruveti dodajte 10 µl fluorohromno-konjugovanih antitela protiv intraćelijskih epitopa i površinskih molekula (antitela se takođe mogu ranije izmešati u permeabiliziranom reagensu i dodati zajedno na kraju koraka fiksiranja).
- Odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici i inkubirajte 15 - 30 min. na sobnoj temperaturi.
- Dodajte 3 ml konačnog 1X reagensa (pripremljenog sa 10X koncentrisanim konačnim rastvorom) u svaku epruvetu; odmah izmešajte u vrtložnoj mešalici; uzorak je sada spremjan za analizu na protočnom citometru.

NAPOMENA: Preparati se mogu čuvati 24 sata pre citometrijske analize; preporučujemo da ih čuvate na 2 – 8°C i zaštićene od svetlosti.

POSTUPAK SA INTRAPREP REAGENSONM

U nastavku je data preporučena procedura za korišćenje sa IntraPrep reagensom za fiksiranje/permeabilizaciju (Ref. A07802 ili A07803).

Za svaki analiziran uzorak je pored epruvete za uzorak moguće dodati i jednu kontrolnu epruvetu u kojoj se ćelije mešaju u prisustvu izotipske kontrole (referentni broj IM2475).

Za uzorak krvi, najbolje bojenje se dobija korišćenjem broja leukocita između 3 i 10×10^3 ćelija / µl. Ako je koncentracija leukocita veća od 10×10^3 ćelija / µl, razredite (11).

- U svaku epruvetu za uzorak dodajte 50 µl krvi uzorkovane u EDTA.
- Dodajte svakoj epruveti 100 µl IntraPrep reagensa 1 (fiksiranje).
- Snažno pomešajte epruvete za uzorak u vrtložnoj mešalici 3 do 5 sekundi.
- Inkubirajte 15 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C) zaštićeno od svetlosti.
- Dodajte 4 ml PBS-a u svaku epruvetu za uzorak.
- Centrifugirajte 5 minuta na 300 x g na sobnoj temperaturi. Uklonite supernatant aspiracijom.
- U svaku epruvetu za uzorak dodajte 100 µl IntraPrep reagensa 2 (permeabilizacija). Pomešajte difuzijom. NE KORISTITI VRTLOŽNU MEŠALICU.
- Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi bez trešenja.
- Polako tresite epruvete za uzorak rukom 2 do 3 sekunde.
- Dodajte 10 µl specifičnog IOTest konjugovanog antitela u svaku epruvetu za uzorak i, ako je to potrebno, 10 µl kontrole izotipa u svaku kontrolnu epruvetu.
- Inkubirajte 15 do 20 minuta na sobnoj temperaturi (18–25°C), zaštićeno od svetlosti.
- Dodajte 4 ml PBS-a i centrifugirajte 5 minuta na 300 x g, na sobnoj temperaturi.
- Uklonite supernatant aspiracijom i ponovo suspendujte talog ćelija u od 0,5 do 1 ml IOTest 3 fiksativnog rastvora (ref. A07800) pri njegovoj radnoj koncentraciji (1X).
- Preparati su spremni za citometrijsku analizu.

NAPOMENA: Ako će se preparati čuvati duže od 2 sata pre citometrijske analize, preporučujemo da ih čuvate na 2 – 8°C i zaštićene od svetlosti. Ipak, ne čuvajte tako odložene preparate duže od 24 sata.

ČEKIVANE VREDNOSTI

U našim laboratorijama, uzorci pune krvi 25 očigledno zdravih donora tretirani su pomoću prethodno opisanog reagensa. Rezultati dobijeni za broj pozitivnih događaja od interesa sa ovim reagensom navedeni su u tabeli u nastavku:

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	10,98	4,13	37,60

Sistem za liziranje IntraPrep:

Pozitivan cilj	Broj	Srednja vrednost (%)	SD	CV (%)
Limfociti	25	10,02	4,03	40,19

Ove vrednosti treba da služe samo kao reprezentativne vrednosti. Svaka laboratorija treba da uspostavi sopstvene očekivane vrednosti iz lokalne populacije normalnih donora.

PERFORMANSE

Podaci o delovanju dobijeni su pomoću prethodno opisanog postupka na manje od 24 sata starim uzorcima krvi koji su prethodno prikupljeni sterilnim epruvetama za uzorce sa EDTA solju kao antikoagulansom. Analiza se vrši u roku od 2 sata od imunobojenja.

SPECIFIČNOST

Molekul CD79a je deo CD79a / CD79b heterodimera sa vezanim disulfidom, nekovalentno vezanog za površinske imunoglobuline u cilju formiranja B ćelijskih receptora (BCR) (12). Ekspresija CD79a se javlja rano u ontogeniji B ćelija i njena lokalizacija u pro-B fazi je prema tome citoplazmatska. CD79a kasnije formira deo BCR. Ekspresija njegove membrane zadržava se do plazmocitne faze, faze u kojoj njena lokalizacija ponovo postaje citoplazmatska (13).

MAb HM47 reaguje sa intracitoplazmatskim epitopom CD79a molekula (13). On je dodeljen CD79a na konferenciji „5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Peta HLDA konferencija o ljudskim antigenima leukocitne diferencijacije), koja je održana u Bostonu, SAD, 1993. godine (Kod WS: cB017, Odeljak B) (13).

PRECIZNOST

Procenat pozitivnih vrednosti utvrđen je pomoću pune krvi. Svaki uzorak je analiziran 4 puta, dva puta dnevno tokom 1 dana na 2 instrumenta pomoću 2 lota reagensa monoklonskog antitela CD79a-APC. Merenja (% pozitivnog) su izvršena na Navios protočnom citometru. Analiza je obavljena na osnovu CLSI metoda EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Procena preciznosti učinka kvantitativnih metoda merenja).

Naši kriterijumi prihvatljivosti zavise od broja pozitivnih događaja izmerenih za svaku populaciju:

- Ako je pozitivan događaj <1.500, CV <15%
- Ako je pozitivan događaj >1.500, CV <10%

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 1026							
	Između više operatora	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistem za liziranje IntraPrep:

Limfociti							
Broj pozitivnih događaja (srednja vrednost) = 880							
	Između više operatora	Između više citometara	Unutar jednog lota	Između više lotova	Između više analiziranja	Unutar jednog analiziranja	Ukupno
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
REZULTATI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

TAČNOST

Tačnost testa CD79a-APC procenjena je poređenjem rezultata sa referentnim reagensom kao osnovom na kompletu uzoraka pune krvi analiziranim na Navios protočnom citometru. Odstupanje između testa i referentnog reagensa određeno je na osnovu razlike između rezultata testova. Ako je odstupanje u okviru dozvoljenog opsega greške ili p-vrednost ne ukazuje na značajnu razliku ($>0,05$), rezultati testova za ova dva reagensa se smatraju ekvivalentnim.

Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli u nastavku:

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Broj donora = 25					
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % čelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI	
Limfociti	0,32	<3	0,005	PASS	

Sistem za liziranje IntraPrep:

Broj donora = 25					
Pozitivan cilj	Srednja vrednost Δ	Δ % čelijskih kriterijuma	p-vrednost	REZULTATI	
Limfociti	0,09	<3	0,659	PASS	

LIMIT SLEPE PROBE I LIMIT DETEKCIJE

Izvršeno je ispitivanje u skladu s protokolom CLSI EP17-A2, „Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures“ (Procena sposobnosti detekcije za postupke merenja u kliničkoj laboratoriji). Limit detekcije (LoD) je najniža koncentracija analita koja se može dosledno detektovati. Kratak pregled dobijenih rezultata naveden je u sledećoj tabeli:

Sistem za liziranje PerFix-nc:

Positive Target	Limit slepe probe (čelija/ μ l)	Limit detekcije (čelija/ μ l)
Limfociti	0	4

Sistem za liziranje IntraPrep:

Positive Target	Limit slepe probe (čelija/ μ l)	Limit detekcije (čelija/ μ l)
Limfociti	1	2

OGRANIČENJA

1. Protočna citometrija može proizvesti netačne rezultate ako citometar nije pravilno postavljen, ako fluorescentna curenja nisu ispravno kompenzirana ili ako regioni nisu pažljivo postavljeni.
2. Tačni i ponovljivi rezultati će se dobijati sve dok su korišćeni postupci u skladu sa listom sa tehničkim podacima i postupci kompatibilni sa smernicama dobre laboratorijske prakse.
3. Konjugovano antitelo ovog reagensa je kalibrисано тако да ponudi najbolji odnos specifičnog i nespecifičnog signala. Prema tome, važno je u svakom testu koristiti utvrđeni odnos zapremine reagensa i zapremine uzorka.
4. U slučaju hiperleukocitoze, razredite krv u PBS-u kako biste dobili vrednost od približno 5×10^9 leukocita/l (11).
5. U određenim stanjima bolesti, kao što su teška bubrežna insuficijencija ili hemoglobinopatije, liziranje eritrocita može biti sporo, nepotpuno ili čak nemoguće. U tom slučaju se pre bojenja preporučuje izoliranje mononuklearnih ćelija upotreboom gradijenta gustine (na primer, fikol) (14).
6. Kod pacijenata lečenih terapijama antihumanim monoklonskim antitelima, detekcija specifičnih ciljanih antigena može biti umanjena ili odsutna usled delimične ili potpune blokade od strane terapijskog antitela.
7. Rezultate CD79a-APC testa treba tumačiti u svetu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući: simptome, kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i druge prikladne informacije.

Za primere i referentne materijale pogledati Dodatak.

ŽIGOVI

Beckman Coulter, stilizovani logotip i Beckman Coulter robni i servisni žigovi koji se navode u ovom dokumentu jesu žigovi ili registrovani žigovi kompanije Beckman Coulter, Inc. u Sjedinjenim Američkim Državama i drugim zemljama.

DODATNE INFORMACIJE

Za pacijenta/korisnika/treću stranu u Evropskoj uniji i zemljama sa identičnim regulatornim režimom (Uredba 2017/746/EU o in vitro dijagnostičkim medicinskim sredstvima); ako je tokom upotrebe ovog uređaja ili kao rezultat njegove upotrebe došlo do ozbiljnog incidenta, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlašćenom predstavniku i svom nacionalnom organu.

Dokument Summary of Safety and Performance (Sažetak informacija o bezbednosti i učinku) dostupan je u EUDAMED bazi podataka: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ISTORIJA REVIZIJA

REVIZIJA AC:	Datum izdavanja: Oktobar, 2019.
REVIZIJA	Datum izdavanja
AW	Februar 2022.
Ažurirano radi usklađenosti sa smernicama za globalno obeležavanje kompanije Beckman Coulter u skladu sa zahtevima IVD-R (EU)2017/746:	
Dodati odeljci	BSI 2797 broj, Predviđeni korisnik, Klinički značaj, Koncentracija, Preciznost, Tačnost, Limit slepe probe i limit detekcije, Dodatne informacije, Istorija revizija.
Dodata informacije	Pogledati odeljke Ograničenja
Ažuriranje formulacija ili tipografije	Pogledati odeljke Postupak, Učinak, Ograničenja, Upozorenja i mere opreza, Čuvanje i stabilnost.
Uklonjeni odeljci	Primeri kliničkih primena, Reagensi, Intralaboratorijska reproducibilnost, Linearnost
Dopunjeni odeljci	Namena, GHS klasifikacija opasnosti, Dokaz propadanja, Postupak, Dodatak.
REVIZIJA	Datum izdavanja
AX	
Dopunjeni odeljci	Dodajte kazaški
Dopunjeni odeljci	Skladištenje i stabilnost

Ključ za simbole

Rečnik simbola je dostupan na adresi beckman.com/techdocs (broj dokumenta B60062)

	Specifikācijas
Specifika	CD79a
Klons	HM47
Hibridoma	NS1 x balb/c
Imunogēns	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imūnglobulīns	IgG1
Suga	Pele
Attīrišana	Afinitātes hromatogrāfija
Fluorohroms	Allophycocyanin (APC)
Molarā attiecība	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ ierosme	633/638 nm
Izstarojuma lielākā vērtība	660 nm
Buferšķidums	PBS pH 7,2 ar 2 mg/ml BSA un 0,1 % NaN ₃

IOTest

Konjugētā antiviela

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testi; 1 ml, 10 µl/testā

In vitro diagnostikas lietošanai

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

Ar fluorohromu konjugētā antiviela nodrošina tādu šūnu populāciju kvalitatīvo un neautomatizēto noteikšanu, kam ir CD79a antigēna ekspresija un kas ir cilvēka bioloģiskajos paraugos, izmantojot plūsmas citometriju (skatīt tālāk sadaļu „Paraugi”).

PRINCIPS

Šī testa pamatā ir specifisku monoklonālu antivielu spēja saistīties ar leikocītu izdalītām antigēnu determinantēm.

Caurlaidību ierosina leikocītu citoplazmas membrānas, lai attēlotu intracelulārās antigēnu determinantes, izmantojot monoklonālas fluorescejošas antivielas. Tad leikocīti tiek analizēti, izmantojot plūsmas citometriju.

Plūsmas citometrs mēra gaismas difuziju un šūnu fluorescenci. Tādēļ ir iespējama interesējošās populācijas ierobežšana elektroniskajā logā, kas definēts histogrammā, kas korelē ar gaismas ortogonālo difuziju (sānu izkliede jeb SS) un šaurleņķa gaismas difuziju (priekšējā izkliede jeb FS). Kā papildu metodes sinhronizācijas procesā iespējams izmantot citas histogrammas, kurās iespējams kombinēt divus dažādus citometrā pieejamos parametrus atkarībā no lietotāja izvēlētā izmantojuma.

Tiek analizēta atdalīto šūnu fluorescence, lai atšķirtu pozitīvi iekrāsotos notikumus no neiekrāsotajiem. Rezultāti tiek izteikti kā procentuālais lielums no pozitīviem notikumiem attiecībā pret visiem notikumiem, kas iegūti selekcijā.

PAREDZĒTAIS LIETOTĀJS

Šis produkts ir paredzēts profesionālai lietošanai laboratorijā.

KLĪNISKAIS NOZĪMĪGUMS

CD79a-APC ir CD79a antiviela, ko izmanto, lai ar plūsmas citometriju noteiktu un raksturotu šūnas, kas ekspresē CD79a antigēnu. Ar vienu pašu šo izstrādājumu nevar iegūt nekādu diagnostisku secinājumu, un tas nav tam paredzēts.

Izmantojot kopā ar citiem markieriem, šo izstrādājumu var lietot vienai vai vairākām tālāk norādītajām funkcijām.

- Lai palīdzētu veikt diferenciāldiagnostiku pacientiem ar hematoloģiskām patoloģijām, kuriem, iespējams, ir asinsrades neoplazma, un lai kontrolētu pacientus ar zināmu asinsrades neoplazmu.

Skatiet tālāk sniegtās atsaucēs.

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

PARAUGI

Venozās asinis jāņem, izmantojot sterilas mēģenes, kurās kā antikoagulants ir izmantots EDTA sāls.

Paraugi ir jāuzglabā istabas temperatūrā (18–25 °C), un tos nedrīkst sakratīt. Pirms testa parauga nemšanas ir jāveic paraugu homogenizācija, viegli saskalojot paraugus.

Paraugu analīze ir jāveic 24 stundu laikā pēc vēnas punkcijas.

KONCENTRĀCIJA

Konkrētai partijai atbilstošo analīzes sertifikātu skatiet vietnē www.beckman.com.

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

- Neizmantojiet reāgentu pēc derīguma termiņa beigām.
- Nedrīkst sasaldēt.
- Pirms izmantošanas ļaujet tam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
- Minimizējiet ekspozīciju gaismas iedarbībai.
- Izvairieties no reāgentu bakteriālās kontaminācijas, jo iespējami viltus rezultāti.
- Strādājot ar antivielu šķidumiem, kuru sastāvā ir nātrijs azīds (NaN₃), jāievēro piesardzība. Neizmantojiet iekšķīgi un nepieļaujiet saskari ar ādu, gлотādu un acīm.

Turklāt šķābā vidē nātrijs azīds var radīt potenciāli bīstamo hidrazoīdskābī. Ja to nepieciešams izmest, reāgentu ieteicams šķīdināt lielā daudzumā ūdens un izliet to kanalizācijas sistēmā, lai novērstu nātrijs azīda uzkrāšanos metāla caurulēs un novērstu sprādzienā risku.

- Visi asins paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcijiem, un ar tiem jārīkojas, ievērojot piesardzību (respektīvi, jāvalkā aizsargcimdi, aizsargtēri un brilles).
- Nekādā gadījumā neizmantojet muti, lai darbotos ar pipeti. Paraugi nekādā gadījumā nedrīkst saskarties ar ādu, gлотādu un acīm.
- Darbā izmantotās asiņu mēģenes un vienreizlietojamie materiāli ir jāizmet ad hoc konteineros, kas paredzēti sadedzināšanai.
- Ir jāveic reaģentu un atkritumu utilizācija atbilstoši vietējām prasībām.

ĶĪMISO VIELU KLASIFICĒŠANAS UN MARķĒŠANAS VISPĀRĒJI SASKANOTĀS SISTĒMAS BĪSTAMĪBAS KLASIFIKAcIJA

Nav klasificēts kā bīstams



Drošības datu lapa ir pieejama vietnē: beckman.com/techdocs

GLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģents ir jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā un jāsargā no gaismas pirms un pēc flakona atvēšanas.

Aizvērtā flakona glabāšanas laiks saskaņā ar stabilitātes pētījumu: 730 dienas.

Atvērtā flakona stabilitāte: reaģents ir stabils 180 dienas.

SADALIŠANĀS PAZĪMES

Jebkuras reaģentu pazīmju izmaiņas var norādīt, ka reaģents sadalās un to nedrīkst izmantot.

Lai iegūtu papildu informāciju vai arī ja saņemtais izstrādājums ir bojāts, zvaniet Beckman Coulter klientu servisam pa tālruni 800-742-2345 (ASV vai Kanāda) vai sazinieties ar vietējo Beckman Coulter pārstāvi.

SATURS

Nātrija azīda konservants var izveidot sprādzienbīstamus savienojumus metāla noteckaurulēs. Skatīt NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (NIOSH biļetens: Azīdu sprādzienbīstamība) (16.8.76.).

Lai nepieļautu iespējamo azīda savienojumu uzkrāšanos, pēc neatšķaidītā reaģenta izmešanas izskalojiet kanalizācijas caurules ar ūdeni. Nātrija azīda izmešana ir jāveic saskaņā ar atbilstošajiem vietējiem noteikumiem.

NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Paraugu nemšanai nepieciešamās mēģenes un materiāli.
- Automātiskās pipetes ar vienreizlietojamiem uzgājiem, kas paredzētas 10, 100 un 500 µl.
- Plastmasas hemolīzes mēģenes.
- Lai iegūtu optimālus rezultātus, ieteicams izmantot jebkuru no tālāk norādītajiem reaģentiem (ievērojiet saistīto specifisko procedūru):
IntraPrep fiksācijas/caurlaidības reaģents (REF A07802 vai A07803)
PerFix-nc kompleks (izmeklējuma kompleks bez centrifūgas) intracelulāras un ekstracelulāras krāsošanas sagatavošanai (REF B31167 vai B31168)
- Leikocītu fiksācijas reaģents. Piemērs: IOTest 3 fiksatīvais šķidums (ats. A07800).
- Izotipa kontrole APC: IOTest reaģents (ats. IM2475).
- Buferšķidums (PBS: 0,01 M nātrija fosfāta; 0,145 M nātrija hlorīda; pH 7,2).
- Centrifugējiet.
- Automātisks maisītājs (samaisīšanas tipa).
- Plūsmas citometrs.

PROCEDŪRA AR PERFIX-NC REAGENTU

Tālāk ir aprakstīta ieteicamā procedūra, ko izmantot ar PerFix-nc komplektu (testa komplekts bez centrifūgas) intracelulāras un ekstracelulāras iekrāsošanas sagatavošanai (atsauce B31167 vai B31168).

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajuktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. IM2475).

Komplekta reaģenta sagatavošana

1 buferšķidums PerFix-nc un 2 reaģents

Nav jāveic izšķidināšana. Abus reaģentus var izmantot tieši no flakona.

3 buferšķiduma PerFix-nc reaģenta sagatavošana

Iepriekš sagatavojiet galīgo 1x reaģantu.

10x koncentrētu 3 buferšķiduma PerFix-nc (galīgais 10x šķidums) atšķaidiet ar dejonizētu ūdeni: 1:1 vienība 3 buferšķiduma ar 9 vienībām ūdens. Pirms lietošanas kārtīgi sajaučiet. Iesakam sagatavot tikai vienai dienai nepieciešamo galīgā 1x reaģenta daudzumu.

- Ar pipeti pārnesiet 50 µl asins parauga uz katru atbilstoši apzīmētu mēģeni. Asinis nedrīkst nonākt uz mēģenes sāniem, jo tad tās netiks apstrādātas pareizi.
- Ievadiet ar pipeti katrā mēģenē 5 or 25 µl fiksējošā reaģenta atkarībā no tā, vai ir vajadzīga vāja vai stipra fiksācija (informāciju par vājas/stipras fiksācijas protokoliem skatiet PerFix-nc lietošanas instrukcijā).
- Nekavējoties samaisiet un pēc tam 15 minūtes inkubējiet istabas temperatūrā (18–25 °C).
- Fiksētās asinis vēlreiz samaisiet un katrai mēģenei pievienojet 300 µl permeabilizācijas reaģenta un nekavējoties vēlreiz samaisiet.
- Katrai mēģenei nekavējoties pievienojet 10 µl ar fluorhromu saistītas antivielas pret intracelulārājiem epitopiem un virsmas molekulām (vai arī antivielas iespējams iepriekš sajukt ar permeabilizācijas reaģentu un pievienot visu kopā fiksācijas darbības beigās).
- Nekavējoties sajaučiet un 15–30 min inkubējiet istabas temperatūrā.

7. Katrai mēģenei pievienojet 3 ml galīgā 1x reāgenta (sagatavots no 10x koncentrēta galīgā šķiduma), nekavējoties saauciet. Tagad paraugu var analizēt plūsmas citometrā.

PIEZĪME. Ja pirms citometrijas analīzes sagataves tiks glabātas ilgāk nekā 24 stundas, ieteicams tās glabāt 2–8 °C un sargāt no gaismas.

PROCEDŪRA AR INTRAPREP REAGENTU

Tālāk ir aprakstīta procedūra, kā izmantot IntraPrep fiksācijas/caurlaidības reāgentu (REF A07802 vai A07803).

Katram analizētajam paraugam papildus testa mēģenei var izmantot vienu kontroles mēģeni, kurā šūnas tiek sajuktas izotipu kontroles klātbūtnē (ats. IM2475).

Optimāla asins parauga iekrāšana tiek nodrošināta, izmantojot leikocītu koncentrāciju $3\text{--}10 \times 10^3$ šūnas/ μl . Ja leikocītu koncentrācija ir lielāka par 10×10^3 šūnām/ μl , veiciet atšķaidīšanu (11).

1. Katrai mēģenei ar EDTA pievienojet 50 μl parauga asīņu.
2. Katrai mēģenei pievienojet 100 μl IntraPrep 1 reāgenta (fiksācija).
3. 3–5 sekundes spēcīgi samaisiet mēģenes.
4. Inkubējiet vismaz 15 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
5. Katrā mēģenē pievienojet 4 ml PBS.
6. Centrifugējiet 5 minūtes istabas temperatūrā, izmantojot 300 x g. Aspirējot nonemiet virsējo slāni.
7. Katrai mēģenei pievienojet 100 μl IntraPrep 2 reāgenta (caurlaidība). Sajaukšanās notiek difundējot. NESAMAISĪT.
8. 5 minūtes inkubējiet istabas temperatūrā bez kratīšanas.
9. Uzmanīgi ar rokām sakratiet mēģenes 2–3 sekundes.
10. Katrai testa mēģenei pievienojet 10 μl specifiskas IOTest konjugētās antivielas un, ja nepieciešams, katrai kontroles mēģenei pievienojet 10 μl izotipa kontroles.
11. Inkubējiet 15–20 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C), sargājot no gaismas.
12. Pievienojet 4 ml PBS un istabas temperatūrā ar 300 x g centrifugējiet 5 minūtes.
13. Aspirējot nonemiet virsējo slāni un šunu centrifugātu atkārtoti suspendējiet no 0,5 līdz 1 ml IOTest 3 fiksējošajā šķidumā (Ats. A07800) darba koncentrācijā (1X).
14. Sagataves ir gatas citometrijas analīzei.

PIEZĪME. Ja pirms citometrijas analīzes sagataves tiks glabātas ilgāk nekā 2 stundas, ieteicams tās glabāt 2–8 °C temperatūrā un sargāt no gaismas. Tomēr arī šādi glabātas sagataves nav derīgas ilgāk nekā 24 stundas.

PAREDZAMĀS VĒRTĪBAS

Mūsu laboratorijās tika apstrādāti 25 acīmredzami veselu donoru pilnasins paraugi, izmantojot iepriekš aprakstīto reāgentu. Ar šo reāgentu iegūtie interesējošo pozitīvo notikumu rezultāti skaitiskā veidā ir sniegti tālāk tabulā.

PerFix-nc lizēšanas sistēma:

Positīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep lizēšanas sistēma:

Positīvais mērķis	Numurs	Aritmētiskais vidējais (%)	SN	Variācijas koeficients (%)
Limfocīti	25	10,02	4,03	40,19

Šīm vērtībām ir tikai raksturojošs nolūks. Katrai laboratorijai jānosaka savas paredzamās vērtības, kas iegūtas no veseliem vietējās populācijas donoriem.

VEIKTSPĒJA

Veikspējas dati tiek iegūti, izmantojot iepriekš aprakstīto procedūru mazāk nekā 24 stundu veciem asins paraugiem, kas iepriekš paņemti sterilās mēgenēs ar EDTA sāli kā antikoagulantu. Analīze tiek veikta 2 stundu laikā pēc imūnkāršošanas metodes izmantošanas.

SPECIFIKA

CD79a molekula ir daļa no CD79a/CD79b ar disulfītu saistīta heterodimēra, kas nekovalenti ir saistīts ar virsmas imūnglobuliniem, lai veidotu B šūnu receptorus (BCR) (12). CD79a izdalīšanās tiek novērota uz B šūnām agrīnā ontogenitātē un tādēļ tā atrašanās vieta pro-B posmā ir citoplasmātiska. Vēlāk CD79a veido daļu no BCR. Tā izdalīšanās uz membrānas tiek turpināta līdz plazmocitiskajam posmam, kad tas atkal tiek novietots citoplasmātiski (13).

MAb HM47 reāgē ar CD79a molekulas intracitoplasmātisko epitopu (13). Tā tika nozīmēta CD79a 5. HLDA seminārā 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Seminārs par cilvēku leikocītu diferenciācijas antigēniem), kas notika Bostonā, ASV, 1993. gadā (WS kods: cB017, B sadaļa) (13).

PRECIZITĀTE

Procentuāli pozitīvās vērtības tika noteiktas, izmantojot pilnasinis. Katru paraugu analizēja 4 reizes: divreiz dienā 1 dienu 2 instrumentos, izmantojot 2 partijas CD79a-APC monoklonālu antivielu reāgentu. Mērījumus (% pozitīvs) veica Navios plūsmas citometrā. Analīzi veica, pamatojoties uz CLSI metodi EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Kvantitatīvo mērišanas metožu precizitātes veikspējas novērtēšana).

Mūsu pieņemšanas kritēriji ir atkarīgi no katrai populācijai noteikto pozitīvo notikumu skaita.

- Ja pozitīvs notikums < 1500, variācijas koeficients < 15 %
- Ja pozitīvs notikums > 1500, variācijas koeficients < 10 %

PerFix-nc lizēšanas sistēma:

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 1026							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analīzē	Kopā

Variācijas koeficients (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep lizēšanas sistēma:

Limfocīti							
Pozitīvo notikumu skaits (aritmētiskais vidējais) = 880							
	Starp operatoriem	Starp citometriem	Partijā	Starp partijām	Starp analīzēm	Analizē	Kopā
Variācijas koeficients (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
REZULTĀTI	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

PRECIZITĀTE

CD79a-APC precizitāti novērtēja, pilnasins paraugu kopas, kas analizēti Navios plūsmas citometrā, rezultātus salīdzinot ar atsauces reaģentu kā predikātu. Novirzi starp testa un atsauces reaģentu noteica, pamatojoties uz testu rezultātu atšķirību. Ja novirze atbilst pieļaujamajam kļūdas diapazonam vai p vērtība neliecina par nozīmīgu atšķirību ($> 0,05$), tad abu reaģentu testu rezultāti uzskatāmi par līdzvērtīgiem.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti nākamajā tabulā.

PerFix-nc lizēšanas sistēma:

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērkis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep lizēšanas sistēma:

Donoru skaits = 25				
Pozitīvais mērkis	Aritmētiskais vidējais Δ	Δ % šūnu kritēriji	p vērtība	REZULTĀTI
Limfocīti	0,09	<3	0,659	PASS

TUKŠO PARAUGU ROBEŽVĒRTĪBA UN NOTEIKŠANAS ROBEŽVĒRTĪBA

Pētījums tika veikts saskaņā ar CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Kliniskās laboratorijas mērījumu procedūru noteikšanas spēju izvērtējums). Noteikšanas robežvērtība (NR) ir zemākā analīta koncentrācija, ko iespējams konsekventi noteikt. Iegūtie rezultāti ir apkopoti tālāk tabulā.

PerFix-nc lizēšanas sistēma:

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/ μ l)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/ μ l)
Limfocīti	0	4

IntraPrep lizēšanas sistēma:

Positive Target	Tukšo paraugu robežvērtība (šūnas/ μ l)	Noteikšanas robežvērtība (šūnas/ μ l)
Limfocīti	1	2

IEROBEŽOJUMI

- Ja citometrs nav novietots precīzi līdzeni, ja nav pareizi kompensētas fluorescence noplūdes un ja reģioni nav uzmanīgi novietoti, plūsmas citometrija var radīt viltus rezultātus.
- Iegūtie rezultāti ir precīzi un reproducējami, ja visas izmantotās procedūras tiek izpildītas atbilstoši tehniskajai lietošanas instrukcijai un ir saskaņā ar labu laboratorijas praksi.
- Šī reaģenta konjugētā antiiviela ir kalibrēta tā, lai nodrošinātu labāko specifiska signāla/nespecifiska signāla attiecību. Tāpēc ir ļoti svarīgi ievērot reaģenta tilpuma/parauga tilpuma attiecību katrā testā.
- Hiperleikocitozes gadījumā atšķaidiet asinīs ar PBS, lai iegūtā vērtība būtu apmēram 5×10^9 leikocīti/l (11).
- Dažos slimību stāvokļos, piemēram, izteiktas nieru mazspējas vai hemoglobinopātijs gadījumā, eritrocītu lizēšana var būt lēna, nepilnīga vai pat neiespējama. Šajā gadījumā pirms iekrāsošanas ir ieteicams izolēt mononukleārās šūnas, izmantojot blīvuma gradientu (piemēram, Ficoll) (14).
- Pacientiem, ko ārstē ar anti-cīlvēka monoklonālas antiivielas līdzekļiem, specifisku mērķa antigēnu noteikšana var būt pasliktināta vai tās var nebūt, jo to dalēji vai pilnībā bloķē terapeitiskā antiiviela.
- CD79a-APC rezultāti jāinterpretē, ņemot vērā pacienta kopējo klinisko prezentāciju, tajā skaitā simptomus, slimības vēsturi, papildu testu rādītājus un citu atbilstošu informāciju.

Pielikumā skatiet piemērus un atsauses.

PREČU ZĪMES

Beckman Coulter, stilizētais logotips un Beckman Coulter preču un pakalpojumu zīmes, kas minētas šeit, ir Beckman Coulter, Inc. preču zīmes vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un citās valstīs.

PAPILDINFORMĀCIJA

Atiecībā uz pacientiem/lietotājiem/trešajām personām Eiropas Savienībā vai valstīs ar identisku regulatīvo režīmu (Regula (ES) 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskām ierīcēm); ja ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, informējet par to ražotāju un/vai tā pilnvaroto pārstāvi, kā arī valsts iestādi.

Summary of Safety and Performance (Drošuma un veikspējas kopsavilkums) ir pieejams EUDAMED datubāzē: ec.europa.eu/tools/eudamed.

PĀRSKATĪŠANAS VĒSTURE

AC VERSIJA:	Laidiena datums: 2019. gada oktobris
PĀRSKATĪJUMS AW	Laidiena datums 2022. gada februāris
Atjauninājumi atbilst Beckman Coulter vispārējai markēšanas politikai un IVD-R (ES)2017/746 prasībām:	
Pievienotas iedaļas	BSI 2797 numurs, Paredzētais lietotājs, Klīniskais nozīmīgums, Koncentrācija, Precizitāte, Precizitāte, Tukšo paraugu robežvērtība un noteikšanas robežvērtība, Papildinformācija, Pārskatīšanas vēsture.
Pievienota informācija	Skatīt iedaļas Ierobežojumi.
Formulējuma vai tipogrāfiski atjauninājumi	Skatīt iedaļas Procedūra, Veikspēja, Ierobežojumi, Brīdinājumi un piesardzības pasākumi, Glabāšana un Stabilitāte.
Izņemtās iedaļas	Klīniskā lietojuma piemērs, reāgenti, reproducējamība laboratorijā, linearitāte.
Atjauninātās sadalas	Paredzētā lietošana, Ķīmisko vielu klasificēšanas un markēšanas vispāreji saskaņotās sistēmas bīstamības klasifikācija, Sadališanās pazīmes, Procedūra, Pielikums.
PĀRSKATĪJUMS AX	Laidiena datums
Atjauninātās sadalas	Pievienot kazahu valodu
Atjauninātās sadalas	Glabāšana un stabilitāte

Simboli skaidrojumi

Simboli glosārijs ir pieejams vietnē beckman.com/techdocs (dokumenta numurs B60062)

	Специфікації
Специфічність	CD79a
Клон	HM47
Гібридома	NS1 x balb/c
Імуноген	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Імуноглобулін	IgG1
Вид	Миша
Очищення	Афінна хроматографія
Флуорохром	Allophycocyanin (APC)
Молярне співвідношення	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ-збудження	633/638 нм
Пік випромінювання	660 нм
Буфер	Розчин ФСБ рН 7,2 плюс бичачий сироватковий альбумін (БСА) 2 мг/мл та 0,1% NaN ₃

Кон'юговане антитіло IOTest

CD79a-APC

REF В36287 100 тестів; 1 мл, 10 мкл/тест

Для діагностики *in vitro*.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Ці антитіла, кон'юговані з флуорохромом, забезпечують якісну та неавтоматизовану ідентифікацію популяцій клітин, що експресують антиген CD79a, присутніх у біологічних пробах людини, за допомогою проточного цитометрії (див. розділ «Проби» нижче).

ПРИНЦИП

Цей тест базується на здатності специфічних моноклональних антитіл зв'язуватися з антигенними детермінантами, які експресуються лейкоцитами.

У цитоплазматичних мембраних лейкоцитів за допомогою моноклональних флуоресцентних антитіл викликається проникність для демонстрації внутрішньоклітинних антигенных детермінантів. Тоді лейкоцити аналізуються методом проточної цитометрії.

Проточний цитометр вимірює розсіювання світла та флуоресценцію клітин. Це робить можливим розмежування досліджуваної популяції всередині електронного вікна, що визначається на гістограмі, яка співвідносить ортогональне розсіювання світла (бічне розсіювання або Side Scatter — SS) і вузькокутове розсіювання світла (пряме розсіювання або Forward Scatter — FS). Інші гістограми, що поєднують два різні параметри, доступні на цитометрі, можна використовувати для допомоги на етапі гейтингу залежно від програми, вибраної користувачем.

Флуоресценція обмеженої популяції клітин аналізується, щоб розрізнати події з позитивно забарвленими клітинами й незабарвленими. Результати виражуються як відсоток позитивних подій відносно всіх подій, зареєстрованих за допомогою гейтингу.

ПЕРЕДБАЧУВАНИЙ КОРИСТУВАЧ

Цей продукт призначений для професійного використання в лабораторії.

КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІТЬ

CD79a-APC — це антитіло CD79a, яке використовується для ідентифікації та характеристики клітин, що експресують антиген CD79a, методом проточного цитометрії. Цей виріб за ізольованого використання не може застосовуватись для генерації жодних діагностичних висновків, він не призначений для цього.

Під час використання разом з іншими маркерами цей продукт можна використовувати в одному або декількох з нижченаведених застосувань.

- У якості допоміжного засобу при проведенні диференціальної діагностики в пацієнтів з відхиленнями в результататах гематологічних досліджень із підозрою на наявність гематopoетичного новоутворення, а також для моніторингу пацієнтів з відомим гематopoетичним новоутворенням.

Див. такі посилання:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ПРОБИ

Венозну кров потрібно брати в стерильні пробірки, що містять ангиокоагулянт — сіль ЕДТА.

Проби слід зберігати за кімнатної температури (18–25°C), і їх не слід струшувати. Перш ніж зняти пробу для тестування, проби потрібно гомогенізувати за допомогою обережного перемішування.

Проби потрібно проаналізувати не пізніше ніж через 24 години після венепункції.

КОНЦЕНТРАЦІЯ

Див. сертифікат аналізу для серії на вебсайті www.beckman.com.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
- Не заморожуйте.
- Доведіть до кімнатної температури (18–25°C) перед використанням.
- Зведіть до мінімуму вплив світла.
- Уникайте мікробної контамінації реагентів, інакше можуть бути отримані помилкові результати.
- Розчини антитіл, які містять азид натрію (NaN₃), треба обробляти обережно. Не приймайте внутрішньо й уникайте будь-якого контакту зі шкірою, слизовими оболонками та очима.

Крім того, у кислому середовищі азид натрію може утворити потенційно небезпечну азотистоводневу кислоту. Якщо його потрібно утилізувати, рекомендується розвести реагент у великий кількості води перед зливанням у водостічну систему, щоб уникнути накопичення азиду натрію на поверхні металевих труб і запобігти небезпеці вибуху.

7. Усі проби крові слід розглядати як потенційно інфекційні та поводитися з ними обережно (зокрема, використовуючи захисні рукавички, халати й окуляри).
8. У жодному разі не піпетуйте ротом та уникайте потрапляння проб на шкіру, слизові оболонки та в очі.
9. Пробірки для крові та одноразові матеріали, які використовуються для оброблення, слід викидати в спеціальні контейнери, вміст яких призначений для спалювання.
10. Реагенти та відходи потрібно утилізувати відповідно до місцевих вимог.

КЛАСИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕКИ ЗА СИСТЕМОЮ GHS

Не класифікуються як небезпечні



Паспорт безпеки доступний на сайті beckman.com/techdocs

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Цей реагент потрібно зберігати за температури від 2 до 8°C у захищенному від світла місці, як до, так і після відкриття флакона.

Термін придатності вмісту закритого флакону відповідно до дослідження стабільності: 730 день.

Стабільність після відкриття флакона: реагент стабільний 180 діб.

ОЗНАКИ ПСУВАННЯ

Будь-яка зміна зовнішнього вигляду реагентів може вказувати на псування, і реагент не слід використовувати.

Щоб отримати додаткову інформацію або повідомити про отримання пошкодженого продукту, зателефонуйте до Служби обслуговування клієнтів Beckman Coulter за номером 800-742-2345 (США або Канада) чи зверніться до місцевого представника компанії Beckman Coulter.

ЗМІСТ

Консервант азид натрію може утворювати вибухонебезпечні сполуки в металевих зливних трубопроводах. Див. Бюлетень Національного інституту з охорони праці та промислової гігієни (NIOSH) Explosive Azide Hazard (Вибухонебезпечні азиди) (16.8.76).

Щоб уникнути можливого утворення сполук азиду, промийте зливні труби водою відразу після утилізації нерозведеного реагенту. Реагенти, що містять азид натрію, треба утилізувати з дотриманням відповідних місцевих норм.

ПОТРІБНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ У КОМПЛЕКТ

- Пробірки для проб і матеріали, потрібні для забору проб.
- Автоматичні піпетки з одноразовими наконечниками на 10, 100 і 500 мкл.
- Пластикові пробірки для гемолізу.
- Для отримання оптимальних результатів рекомендовано використовувати будь-який із зазначених нижче реагентів (дотримуйтесь відповідної пов'язаної процедури).

Реагент для фіксації/пермеабілізації IntraPrep (REF A07802 або A07803)

Набір PerFix-nc (набір для аналізу без центрифугування) для підготовки до внутрішньоклітинного та позаклітинного фарбування (REF B31167 або B31168)

- Реагент для фіксації лейкоцитів. Наприклад: розчин для фіксації IOTest 3 (Ref. A07800).
- Ізотипічний контроль APC: реагент IOTest (Ref. IM2475).
- Буфер (ФСБ: 0,01 моль фосфату натрію; 0,145 моль хлориду натрію; pH 7,2).
- Центрифугування.
- Автоматичний змішувач (типу вортекс).
- Проточний цитометр.

ПРОЦЕДУРА ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ РЕАГЕНТУ PERFIX-NC

Нижче описано процедуру, яку рекомендовано використовувати з набором PerFix-nc (набір для аналізу без центрифугування) для підготовки до внутрішньоклітинного та позаклітинного забарвлення (Арт. B31167 або B31168).

Для кожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. IM2475).

Підготовка реагентів із набору

Реагенти PerFix-nc Buffer 1 і 2

Розводити не потрібно. Обидва реагенти можна використовувати безпосередньо з флакона.

Підготовка реагенту PerFix-nc Buffer 3

Підготуйте кінцевий реагент у концентрації 1X безпосередньо перед його використанням.

Розведіть розчин PerFix-nc Buffer 3 в концентрації 10X (кінцевий розчин 10-кратної концентрації) в деіонізованій воді в такій пропорції: 1 частина розчину Buffer 3 та 9 частин води. Добре перемішайте перед використанням. Ми рекомендуємо приготувати кінцевий реагент у концентрації 1X тільки в об'ємі, необхідному для проведення експериментів на поточний день.

1. Внесіть піпеткою 50 мкл зразка крові на дно кожної відповідним чином маркованої пробірки. Уникайте потрапляння крові на стінку пробірки, тому що її буде оброблено неналежним чином.

- Внесіть піпеткою 5 of 25 мкл фіксуючого реагенту в кожну пробірку в залежності від того, чи потрібна низька або висока фіксація (щоб отримати докладні відомості про протоколи низької/високої фіксації див. інструкції із застосування системи PerFix-nc).
- Негайно перемішайте у вортексі та інкубуйте протягом 15 хвилин при кімнатній температурі (18–25°C).
- Повторно перемішайте у вортексі зафіковану кров, додайте доожної пробірки по 300 мкл реагенту для permeabilізації та негайно перемішайте.
- Негайно додайте доожної пробірки по 10 мкл кон'югованих із флуорохромом антитіл для протидії внутрішньоклітинним епітопам і поверхневим молекулам (або антитіла можна попередньо домішати до реагенту для permeabilізації та додати в кінці етапу фіксації).
- Негайно перемішайте у вортексі та інкубуйте протягом 15–30 хвилин при кімнатній температурі.
- Додайте доожної пробірки по 3 мл кінцевого реагенту в концентрації 1X (приготованого з кінцевого розчину в концентрації 10X) і одразу перемішайте у вортексі. Після цього зразок готовий до аналізу у проточному цитометрі.

ПРИМІТКА. Препарати можна зберігати протягом 24 годин до цитометричного аналізу при рекомендованій температурі 2–8°C та в захищенному від світла місці.

ПРОЦЕДУРА З ВИКОРИСТАННЯМ РЕАГЕНТУ INTRAPREP

Нижче описано процедуру, яку рекомендовано використовувати з реагентом для фіксації/пермеабілізації IntraPrep (REF A07802 або A07803).

Дляожної аналізованої проби на додачу до тест-пробірки може бути використана одна контрольна пробірка, у якій клітини змішано в присутності ізотипічного контролю (Ref. IM2475).

Для зразка крові можна отримати оптимальні результати фарбування, якщо кількість лейкоцитів становитиме від 3 до 10×10^3 клітин/ мкл. Якщо концентрація клітин вища за 10×10^3 клітин/ мкл, розведіть зразок (11).

- Додайте по 50 мкл крові, відібраної в ЕДТА, уожної пробірку.
- Додайте доожної пробірки 100 мкл реагенту IntraPrep 1 (для фіксації)
- Енергійно змішайте вміст пробірок вихровим способом упродовж 3–5 секунд.
- Інкубуйте протягом 15 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищенному від світла місці.
- Додайте 4 мл ФСБ доожної пробірки.
- Центрифугуйте за кімнатної температури протягом 5 хвилин зі швидкістю 300 г. Видаліть надосадову рідину аспіратором.
- Додайте доожної пробірки 100 мкл реагенту IntraPrep 2 (для permeabilізації). Дайте вмісту перемішатися завдяки дифузії. НЕ ЗМІШУВАТИ ВИХРОВИМ СПОСОБОМ.
- Інкубуйте протягом 5 хвилин за кімнатної температури, не струшуючи.
- Обережно струсять пробірки вручну протягом 2–3 секунд.
- Додайте доожної тестової пробірки 10 мкл специфічних кон'югованих антитіл IOTest, і, якщо потрібно, 10 мкл ізотипічного контролю доожної контрольної пробірки.
- Витримайте протягом 15–20 хвилин за кімнатної температури (18–25°C) у захищенному від світла місці.
- Додайте 4 мл ФСБ і центрифугуйте на швидкості 300 г протягом 5 хвилин за кімнатної температури.
- Видаліть супернатант за допомогою аспірації та ресуспендуйте клітинний осад у фіксуючому розчині IOTest 3 об'ємом від 0,5 до 1 мл (арт. A07800) в робочій концентрації (1X).
- Препарати готові до цитометричного аналізу.

ПРИМІТКА. Якщо препарати зберігаються більше 2 годин до цитометричного аналізу, рекомендується зберігати їх при температурі 2–8°C та в захищенному від світла місці. Однак препарати не можна зберігати більше 24 годин.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

У наших лабораторіях проби цільної крові 25 практично здорових донорів обробляли з використанням реагенту, описаного вище. Отримані результати підрахунку позитивних подій, які досліджуються, з використанням цього реагенту наведено в таблиці нижче:

Система для лізису PerFix-nc:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	10,98	4,13	37,60

Система для лізису IntraPrep:

Цільова позитивна популяція	Число	Середнє значення (%)	СВ	КВ (%)
Лімфоцити	25	10,02	4,03	40,19

Ці значення призначенні лише для репрезентативних цілей. Кожна лабораторія має встановити власний діапазон очікуваних значень серед місцевої популяції здорових донорів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ

Робочі показники ефективності отримуються з використанням процедури, описаної вище, на пробах крові, які були відібрані в стерильні пробірки із сіллю ЕДТА як антикоагулянтом, а також зберігалися менше ніж 24 години. Аналіз проводиться упродовж 2 годин після імунного фарбування.

СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Молекула CD79a є частиною зв'язаного дисульфідами гетеродимера CD79a/CD79b, нековалентно прив'язаного до поверхневих імуноглобулінів для формування рецепторів В-клітин (BCR) (12). Експресія CD79a з'являється на ранніх етапах онтогенезу В-клітин, тому локалізується в цитоплазмі на стадії формування В-клітин-попередників. Згодом CD79a стає частиною рецепторів В-клітин. Її мембранина експресія зберігається до плазмоцитарної стадії, на якій вона знову локалізується в цитоплазмі (13).

MAb HM47 реагує з внутрішньоцитоплазматичним епітопом молекули CD79a (13). Його призначено молекулі CD79a на конференції 5th HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5-а Конференція щодо антигенів диференціації лейкоцитів людини), яка проходила в Бостоні, США, у 1993 році (код WS: cB017, розділ В) (13).

ПРЕЦІЗІЙНІСТЬ

Процент позитивних значень визначали за допомогою цільної крові. Кожну пробу обробляли 4 рази, двічі на добу впродовж 1 доби на 2 приладах, використовуючи 2 серії реагентів моноклональних антитіл CD79a-APC. Вимірювання (% позитивних значень) виконували на проточному цитометрі Navios. Аналіз проводили на основі методу CLSI EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Оцінювання прецизійності кількісних методів вимірювання).

Наші критерії прийнятності залежать від кількості позитивних подій, виміряних для кожної популяції.

- Якщо кількість позитивних подій < 1500, KB < 15%
- Якщо кількість позитивних подій > 1500, KB < 10%

Система для лізису PerFix-nc:

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 1026							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
KB (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Система для лізису IntraPrep:

Лімфоцити							
Кількість позитивних подій (середнє значення) = 880							
	Між операторами	Між цитометрами	У межах однієї серії	Між серіями	Між серіями вимірювань	У межах однієї серії вимірювань	Усього
KB (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
РЕЗУЛЬТАТИ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ТОЧНІСТЬ

Точність CD79a-APC оцінювали через порівняння результатів з еталонним реагентом як контролем якості для набору проб цільної крові на проточному цитометрі Navios. Систематичну помилку між тестовим та еталонним реагентами визначали на основі різниці між результатами тесту. Якщо систематична помилка знаходиться в межах діапазону допустимої похибки або р-значення вказує на відсутність значущої різниці (> 0,05), тоді результати тесту для двох реагентів вважаються еквівалентними.

Отримані результати підсумовано в таблиці, наведений нижче.

Система для лізису PerFix-nc:

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерій Δ % клітин	р-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	0,32	<3	0,005	PASS

Система для лізису IntraPrep:

Кількість донорів = 25				
Цільова позитивна популяція	Середня Δ	Критерій Δ % клітин	р-значення	РЕЗУЛЬТАТИ
Лімфоцити	0,09	<3	0,659	PASS

МЕЖА ХОЛОСТОЇ ПРОБИ Й МЕЖА ВИЯВЛЕННЯ

Дослідження проводилося відповідно до рекомендацій CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, Оцінювання можливості виявлення для методик клінічних лабораторних вимірювань). Межа виявлення (LOD) — це найнижча концентрація аналіту, яку стабільно можна виявити. Отримані результати підсумовано в наведений нижче таблиці.

Система для лізису PerFix-nc:

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	0	4

Система для лізису IntraPrep:

Positive Target	Межа холостої проби (клітин/мкл)	Межа виявлення (клітин/мкл)
Лімфоцити	1	2

ОБМЕЖЕННЯ

- Результати проточної цитометрії можуть бути помилковими, якщо вказане нижче не було виконано належним чином: вирівняно цитометр, скомпенсовано витік флуоресценції, здійснено позиціонування ділянок.
- Буде отримано точні й відтворювані результати, якщо процедури застосовуються відповідно до технічної інструкції, що додається, і стандартів належної лабораторної практики.

3. Кон'юговані антитіла цього реагенту відкалібровано таким чином, щоб забезпечити краще співвідношення специфічного сигналу та неспецифічного сигналу. Тому важливо дотримуватися співвідношення об'єму реагенту та об'єму проби в кожному тесті.
4. У разі гіперлейкоцитозу кров слід розводити у ФСБ так, щоб отримати концентрацію приблизно 5×10^9 лейкоцитів/л (11).
5. У разі деяких захворювань або станів, як-от тяжка ниркова недостатність або гемоглобінопатії, лізис еритроцитів може бути повільним, неповним або навіть неможливим. У цьому разі рекомендується виділяти мононуклеарні клітини за градієнтом щільності (наприклад, з використанням філоку) перед фарбуванням (14).
6. У пацієнтів, які отримують лікування антилюдськими моноклональними антитілами, виявлення специфічних цільових антигенів може бути зниженім або відсутнім через часткове або повне блокування терапевтичним антитілом.
7. Результати CD79a-APC слід інтерпретувати у світлі загальної клінічної картини пацієнта, включно із симптомами, клінічним анамнезом, даними додаткових тестів та іншою відповідною інформацією.

Див. приклади й посилання в додатку.

ТОРГОВЕЛЬНІ МАРКИ

Beckman Coulter, стилізований логотип, товарні знаки й сервісні марки Beckman Coulter, вказані тут, є торговельними марками або зареєстрованими торговельними марками компанії Beckman Coulter, Inc. у Сполучених Штатах Америки й інших країнах.

ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Для пацієнта / користувача / третьої сторони в Європейському Союзі та в країнах з ідентичною системою нормативного регулювання (Регламент 2017/746/ЄС про медичні вироби для діагностики *in vitro*); якщо під час використання цього пристрою або в результаті його використання стався серйозний інцидент, повідомте про це виробнику й (або) його уповноваженому представнику та місцевому національному органу.

The Summary of Safety and Performance (Огляд безпеки та основних характеристик) доступний у базі даних EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

ІСТОРІЯ ЗМІН

РЕДАКЦІЯ АС:	Дата випуску: Жовтень 2019 р.
РЕДАКЦІЯ	Дата випуску
AW	
Оновлення мають відповідати Глобальній політиці щодо маркування компанії Beckman Coulter і вимогам IVD-R (ЕС)2017/746:	Лютий 2022 р.
Додані розділи	«Номер BSI 2797», «Цільовий користувач», «Клінічна значущість», «Концентрація», «Прецизійність», «Точність», «Межа холостої проби й межа виявлення», «Додаткова інформація», «Історія змін».
Додана інформація	Див. розділ «Обмеження»
Оновлення формулювання або типографічні оновлення	Див. розділи «Процедура», «Робочі показники», «Обмеження», «Попередження та застереження», «Зберігання та стабільність».
Видалені розділи	«Приклад клінічного застосування», «Реагенти», «Міжлабораторна відтворюваність», «Лінійність»
Оновлені розділи	«Призначення», «Класифікація небезпек GHS», «Ознаки погіршення характеристик», «Процедура», «Додаток».
РЕДАКЦІЯ	Дата випуску
AX	
Оновлені розділи	Додано казахську мову
Оновлені розділи	Зберігання й стабільність

СПИСОК СИМВОЛІВ

Гlossарій символів доступний на сайті beckman.com/techdocs (документ № B60062)

	Especificações
Especificidade	CD79a
Clone	HM47
Híbridoma	NS1 x balb/c
Imunógeno	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Imunoglobulina	IgG1
Espécie	Camundongo
Purificação	Cromatografia de afinidade
Fluorocromo	Allophycocyanin (APC)
Razão molar	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ de excitação	633/638 nm
Pico de emissão	660 nm
Tampão	PBS com pH de 7,2 mais 2 mg/mL de BSA e 0,1% de NaN ₃

IOTest

Anticorpo conjugado

CD79a-APC

[REF] B36287 100 testes; 1 mL, 10 µL/teste

Para uso em diagnóstico *in vitro*

USO PREVISTO

Esse anticorpo conjugado com fluorocromo permite a identificação qualitativa e não automatizada das populações de células que expressam o antígeno CD79a presente em amostras biológicas humanas utilizando a citometria de fluxo (consulte a seção "Amostras" a seguir).

PRINCÍPIO

Este teste baseia-se na capacidade que os anticorpos monoclonais específicos têm de se ligarem aos determinantes antigênicos expressos por leucócitos.

A permeabilidade é induzida nas membranas citoplasmáticas dos leucócitos para demonstração dos determinantes antigênicos intracelulares através de anticorpos fluorescentes monoclonais. Em seguida, os leucócitos são analisados por citometria de fluxo.

O citômetro de fluxo mede a difusão da luz e a fluorescência das células. Ele possibilita a delimitação da população de interesse na janela eletrônica definida por um histograma, que correlaciona a difusão ortogonal da luz (dispersão lateral ou SS) e a difusão da luz em ângulo estreito (dispersão frontal ou FS). Outros histogramas que combinam dois dos diferentes parâmetros disponíveis no citômetro podem ser utilizados como auxílio no estágio de delimitação, dependendo da aplicação escolhida pelo usuário.

A fluorescência das células delimitadas é analisada para distinguir os eventos de coloração positiva daqueles sem coloração. Os resultados são expressos como uma porcentagem dos eventos positivos em relação a todos os eventos adquiridos pela delimitação.

USUÁRIO PREVISTO

Este produto destina-se ao uso laboratorial profissional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O CD79a-APC é um anticorpo para CD79a usado para identificar e caracterizar, por citometria de fluxo, as células que expressam o antígeno CD79a. Este produto por si só não pode e não se destina a originar qualquer conclusão diagnóstica.

Quando usado em combinação com outros marcadores, este produto pode ser usado com uma ou mais das seguintes funções:

- Para auxiliar no diagnóstico diferencial de pacientes com anormalidades hematológicas com suspeita de terem neoplasia hematopoiética e para monitorar pacientes com neoplasia hematopoiética conhecida.

Consulte as referências a seguir:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

AMOSTRAS

Sangue venoso deve ser coletado usando tubos estéreis contendo um sal de EDTA como anticoagulante.

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (18-25°C) e não devem ser agitadas. A amostra deve ser homogeneizada por agitação suave antes que a amostra para teste seja retirada.

As amostras devem ser analisadas no prazo de 24 horas após a coleta.

CONCENTRAÇÃO

Consulte o certificado de análise específico do lote em www.beckman.com.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Não use o reagente após o prazo de validade.
2. Não congele.
3. Deixe atingir a temperatura ambiente antes de usar (18-25°C).
4. Minimize a exposição à luz.
5. Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois isso pode gerar falsos resultados.
6. As soluções de anticorpos contendo azida sódica (NaN₃) devem ser manuseadas com cuidado. Não utilize internamente e evite o contato com a pele, mucosas e olhos.

Além disso, em um meio ácido, a azida sódica pode formar ácido hidrazoico potencialmente perigoso. Se precisar descartar essa substância, recomenda-se que o reagente seja diluído em um grande volume de água antes de despejá-lo no sistema de drenagem para evitar o acúmulo de azida sódica nos canos de metal e o risco de explosão.

7. Todas as amostras de sangue devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e devem ser manipuladas com cuidado (em particular: uso de luvas, jalecos e óculos de proteção).
8. Nunca coloque a pipeta na boca e evite qualquer contato das amostras com a pele, mucosas e olhos.
9. Os tubos de sangue e o material descartável utilizado para manuseio deve ser descartado em recipientes ad hoc destinados à incineração.
10. Os reagentes e os resíduos devem ser eliminados de acordo com os requisitos locais.

CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso



A Folha de dados de segurança está disponível em beckman.com/techdocs

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Este reagente deve ser mantido entre 2 e 8°C e protegido da luz, antes e depois do frasco ter sido aberto.

Validade do frasco fechado de acordo com o estudo de estabilidade: 730 dias.

Estabilidade do frasco aberto: o reagente é estável por 180 dias.

EVIDÊNCIA DE DETERIORAÇÃO

Qualquer alteração no aspecto físico dos reagentes poderá indicar deterioração e o reagente não deverá ser utilizado.

Para obter informações adicionais ou se o produto recebido estiver danificado, entre em contato com o serviço de atendimento ao cliente da Beckman Coulter através do número 800-742-2345 (EUA ou Canadá) ou entre em contato com o representante local da Beckman Coulter.

CONTEÚDO

A azida sódica utilizada como conservante pode formar compostos explosivos em canos de escoamento metálicos. Consulte o Boletim do NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health [Instituto de segurança e saúde ocupacional dos EUA]): Explosive Azide Hazard (Perigos de explosão de azida) (16/8/76).

Para evitar o possível acúmulo de compostos de azida, enxágue os canos de escoamento com água após o descarte do reagente não diluído. O descarte da azida sódica deve ser efetuado de acordo com as normas locais apropriadas.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT:

- Tubos de amostra e material necessário para amostragem.
- Pipetas automáticas com pontas descartáveis para 10, 100 e 500 µL.
- Tubos plásticos de hemólise.
- Para obter resultados otimizados, são recomendados quaisquer dentre os seguintes reagentes (sigam o procedimento específico relacionado):
 - Reagente de fixação/permeabilização IntraPrep (REF A07802 ou A07803)
 - Kit PerFix-nc (kit de ensaio sem centrífuga), para preparação de coloração intra e extracelular (Ref. B31167 ou B31168)
- Reagente de fixação de leucócitos. Por exemplo: Solução fixadora IOTest 3 (Ref. A07800).
- Controle do isótipo APC: reagente IOTest (Ref. IM2475).
- Tampão (PBS: fosfato de sódio a 0,01 M; cloreto de sódio a 0,145 M; pH 7,2).
- Centrífuga.
- Agitador automático (tipo vórtex).
- Citômetro de fluxo.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE PERFIX-NC

O procedimento recomendado para ser usado com o kit PerFix-nc (kit de ensaio sem centrífuga) para preparação de coloração intra e extracelular (Ref. B31167 ou B31168) encontra-se a seguir.

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. IM2475).

Preparação do reagente do kit

Reagentes de solução tampão 1 e 2 PerFix-nc

A reconstituição não é necessária. Os reagentes podem ser utilizados diretamente do frasco.

Preparação do reagente de solução tampão 3 PerFix-nc

Prepare extemporaneamente o reagente Final 1X.

Dilua a solução tampão 3 com concentração de 10X PerFix-nc (solução final 10X) em água desionizada: 1 volume de solução tampão 3 com 9 volumes de água. Misture bem antes do uso. Recomendamos preparar apenas o volume do reagente Final 1X necessário para as experiências do dia.

1. Pipete 50 µL de amostra de sangue no fundo de cada tubo adequadamente rotulado. Evite colocar sangue na lateral do tubo; caso contrário, ele não será processado adequadamente.
2. Pipete 5 or 25 µL do reagente de fixação em cada tubo, dependendo da necessidade de fixação baixa ou alta (consulte as PerFix-nc instruções de uso do PerFix-nc para obter detalhes sobre os protocolos de fixação baixa/alta).
3. Agite imediatamente em vórtex e incube por 15 min em temperatura ambiente (18–25°C).

4. Agite em vórtex novamente o sangue fixado e adicione 300 µL do Reagente de permeabilização em cada tubo; agite em vórtex imediatamente.
5. Adicione imediatamente a cada tubo 10 µL dos anticorpos conjugados com fluorocromo relativamente aos epítopos intracelulares e moléculas de superfície (alternativamente, os anticorpos podem ser pré-misturados no Reagente de permeabilização e adicionados em conjunto no final da etapa de fixação).
6. Agite imediatamente em vórtex e incube por 15–30 min a temperatura ambiente.
7. Adicione 3 mL de reagente Final 1X (preparado a partir da solução final em concentração de 10X) a cada tubo; agite em vórtex imediatamente; a amostra está agora preparada para análise em um citômetro de fluxo.

NOTA: As preparações podem ser armazenadas durante 24 horas antes da análise citométrica. É aconselhável armazená-las entre 2–8°C e protegê-las da luz.

PROCEDIMENTO COM O REAGENTE INTRAPREP

A seguir é apresentado o procedimento recomendado com o reagente de fixação/permeabilização IntraPrep (Ref. A07802 ou A07803).

Para cada amostra analisada, além do tubo de teste, pode ser adicionado um tubo de controle no qual as células são misturadas na presença do controle de isótipo (Ref. IM2475).

Para uma amostra de sangue, a coloração ideal é obtida usando-se um número de leucócitos entre 3 e 10×10^3 células/µL. Se a concentração de leucócitos for superior a 10×10^3 células/µL, dilua (11).

1. Adicione 50 µL do sangue amostrado em EDTA em cada tubo.
2. Adicione a cada tubo 100 µL de reagente IntraPrep 1 (Fixação)
3. Agite vigorosamente os tubos em vórtex por 3 a 5 segundos.
4. Incube durante 15 minutos em temperatura ambiente (18–25°C), protegido da luz.
5. Adicione 4 mL de PBS a cada tubo.
6. Centrifuge por 5 minutos a 300 x g em temperatura ambiente. Retire o sobrenadante por aspiração.
7. Adicione a cada tubo 100 µL de reagente IntraPrep 2 (permeabilização). Deixe a mistura ocorrer por difusão. NÃO AGITE EM VÓRTEX.
8. Incube por 5 minutos, em temperatura ambiente, sem agitar.
9. Agite os tubos cuidadosa e manualmente por 2 a 3 segundos.
10. Adicione 10 µL de anticorpo conjugado IOTest específico a cada tubo de teste e, se necessário, 10 µL do controle do isótipo a cada tubo de controle.
11. Incube durante 15 a 20 minutos em temperatura ambiente (18–25°C), protegido da luz.
12. Adicione 4 mL de PBS e centrifuge a 300 x g por 5 minutos em temperatura ambiente.
13. Remova o sobrenadante por aspiração e suspenda novamente o precipitado celular em 0,5 a 1 mL de Solução de fixação IOTest 3 (Ref. A07800) em sua concentração de trabalho (1X).
14. As preparações estão prontas para análise citométrica.

NOTA: Se as preparações tiverem que ser armazenadas por mais de 2 horas antes da análise citométrica, é aconselhável armazená-las a 2–8°C e protegê-las da luz. As preparações assim armazenadas não são, porém, preservadas por mais do que 24 horas.

VALORES ESPERADOS

Em nossos laboratórios, as amostras de sangue total de 25 doadores aparentemente saudáveis foram tratadas usando o reagente anteriormente descrito. Os resultados obtidos para a contagem dos eventos positivos de interesse com esse reagente são fornecidos na tabela a seguir:

Sistema de lise PerFix-nc:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	10,98	4,13	37,60

Sistema de lise IntraPrep:

Alvo positivo	Número	Média (%)	DP (Desvio padrão)	CV (%)
Linfócitos	25	10,02	4,03	40,19

Esses valores são apenas representativos. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores esperados da população local de doadores normais.

DESEMPENHO

Os dados de desempenho são obtidos usando o procedimento descrito anteriormente em amostras de sangue com menos de 24 horas, coletadas previamente em tubos estéreis com sal de EDTA como anticoagulante. A análise é realizada no prazo de 2 horas após a imunocoloração.

ESPECIFICIDADE

A molécula CD79a faz parte do heterodímero de ligação dissulfídica CD79a/CD79b, ligado de forma não covalente a imunoglobulinas de superfície de modo a formar receptores de células B (BCR) (12). A expressão de CD79a surge cedo na ontogenia de células B e sua localização no estágio pró-B é, portanto, citoplasmática. Posteriormente, a CD79a faz parte do BCR. Sua expressão na membrana persiste até o estágio plasmocítico, o estágio no qual sua localização se torna mais uma vez citoplasmática (13).

O mAb HM47 reage com um epítopo intracitoplasmático da molécula CD79a (13). Ele foi atribuído à CD79a durante o 5º HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Workshop sobre HLDA de diferenciação de抗ígenos de leucócitos humanos), realizado em Boston, EUA, em 1993 (código WS: cb017, seção B) (13).

PRECISÃO

Os valores percentuais positivos foram determinados usando-se sangue total. Cada amostra foi processada 4 vezes, duas vezes por dia durante 1 dia em 2 instrumentos, usando 2 lotes de reagentes de anticorpos monoclonais de CD79a-APC. As medições (% de positivos) foram realizadas no citômetro de

fluxo Navios. A análise foi realizada com base no método EP5-A2 do CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Avaliação de desempenho de precisão de métodos de medição quantitativos).

Nossos critérios de aceitação dependem do número de eventos positivos medidos para cada população:

- Se eventos positivos <1.500, CV <15%
- Se eventos positivos >1.500, CV <10%

Sistema de lise PerFix-nc:

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 1026							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Sistema de lise IntraPrep:

Linfócitos							
Número de eventos positivos (média) = 880							
	Entre operadores	Entre citômetros	Dentro do lote	Entre lotes	Entre processamentos	Dentro do processamento	Total
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTADOS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

EXATIDÃO

A exatidão do CD79a-APC foi avaliada comparando-se os resultados com um reagente de referência como o predicado em um conjunto de amostras de sangue total processadas em um citômetro de fluxo Navios. A tendência entre o reagente de teste e o de referência foi determinada com base na diferença entre os resultados dos testes. Se a tendência estiver dentro da faixa de erro aceitável ou o valor p não indicar diferenças significativas ($>0,05$), então os resultados dos testes para os dois reagentes são considerados como equivalentes.

Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Sistema de lise PerFix-nc:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,32	<3	0,005	PASS

Sistema de lise IntraPrep:

Número de doadores = 25				
Alvo positivo	Δ média	Critérios de Δ % de células	valor p	RESULTADOS
Linfócitos	0,09	<3	0,659	PASS

LIMITE DE BRANCO E LIMITE DE DETECÇÃO

Foi realizado um estudo em conformidade com a diretriz EP17-A2 do CLSI, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Avaliação da capacidade de detecção para procedimentos de medição de laboratório clínico). O Limite de detecção (LOD) é a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada consistentemente. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

Sistema de lise PerFix-nc:

Positive Target	Limite de branco (células/ μ L)	Limite de detecção (células/ μ L)
Linfócitos	0	4

Sistema de lise IntraPrep:

Positive Target	Limite de branco (células/ μ L)	Limite de detecção (células/ μ L)
Linfócitos	1	2

LIMITAÇÕES

1. A citometria de fluxo pode produzir resultados falsos se o citômetro não for alinhado perfeitamente, se os vazamentos de fluorescência não forem corretamente compensados e se as regiões não forem cuidadosamente posicionadas.
2. Serão obtidos resultados exatos e reproduzíveis desde que os procedimentos utilizados estejam em conformidade com o folheto técnico e sejam compatíveis com as boas práticas de laboratório.
3. O anticorpo conjugado desse reagente é calibrado para oferecer a melhor razão entre sinal específico e sinal não específico. Por isso, é importante manter a razão entre volume do reagente e volume da amostra em cada teste.
4. No caso de hiperleucocitose, dilua o sangue em PBS para obter um valor de aproximadamente 5×10^9 leucócitos/L (11).
5. Em certos estados da doença, como insuficiência renal grave e hemoglobinopatias, a lise das hemárias pode ser lenta, incompleta ou até mesmo impossível. Nesse caso, recomenda-se isolar as células mononucleadas usando um gradiente de densidade (Ficoll, por exemplo) antes da coloração (14).
6. Em pacientes tratados com terapias de anticorpos monoclonais anti-humanos, a detecção dos抗ígenos-alvo específicos pode ser diminuída ou não ocorrer devido ao bloqueio parcial ou total pelo anticorpo terapêutico.
7. Os resultados de CD79a-APC devem ser interpretados com base no quadro clínico geral do paciente, incluindo: sintomas, histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.

Consulte o anexo para obter exemplos e referências.

MARCAS COMERCIAIS

Beckman Coulter, o logotipo estilizado e as marcas dos produtos e serviços da Beckman Coulter mencionados neste documento são marcas comerciais ou marcas comerciais registradas da Beckman Coulter, Inc. nos Estados Unidos e em outros países.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamentação 2017/746/UE sobre In vitro Diagnostic Medical Devices [Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro]), se, durante o uso deste dispositivo ou como resultado de seu uso, ocorrer um incidente grave, relate-o ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

O Summary of Safety and Performance (Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

HISTÓRICO DE REVISÃO

REVISÃO AC:	Data de publicação: outubro de 2019
REVISÃO	Data de publicação
AW	Fevereiro de 2022
Atualizações para o cumprimento da Global labelling Policy (Política de rotulagem global) da Beckman Coulter e de acordo com os requisitos da IVD-R (UE)2017/746:	
Seções adicionadas	Número BSI 2797, Usuário previsto, Relevância clínica, Concentração, Precisão, Exatidão, Limite de branco e limite de detecção, Informações adicionais, Histórico de revisão.
Informações adicionadas	Consulte as seções: Limitações
Atualizações tipográficas ou de fraseado	Consulte as seções Procedimento, Desempenho, Limitações, Avisos e precauções, Armazenamento e estabilidade.
Seções removidas	Exemplo de aplicações clínicas, Reagentes, Reprodutibilidade intralaboratorial, Linearidade
Seções atualizadas	Uso previsto, Classificação de perigo do GHS, Evidência de deterioração, Procedimento, Anexo.
REVISÃO	Data de publicação
AX	
Seções atualizadas	Adicionar cazaque
Seções atualizadas	Armazenamento e estabilidade

Legenda dos símbolos

O Glossário de símbolos está disponível em beckman.com/techdocs (documento número B60062)

	Specificaties
Specificiteit	CD79a
Kloon	HM47
Hybridoom	NS1 x balb/c
Immunogeen	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Immunoglobuline	IgG1
Soort	Muis
Purificatie	Affinititeit chromatografie
Fluorochroom	Allophyccyanin (APC)
Molaire verhouding	APC/Ig: 0,5 - 1,5
λ excitatie	633/638 nm
Emissiepiek	660 nm
Buffer	PBS pH 7,2 plus 2 mg/mL BSA en 0,1% NaN ₃

IOTest

Geconjugeerde antilichaam

CD79a-APC

[REF] B36287 100 tests; 1 mL, 10 µL / test

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

BEOOGD GEBRUIK

Met dit fluorochroom-geconjugeerde antilichaam kunnen celpopulaties die het CD79a-antigeen tot expressie brengen, kwalitatief en niet-geautomatiseerd worden geïdentificeerd in menselijke biologische monsters met behulp van flowcytometrie (zie het gedeelte 'Monsters' hieronder).

PRINCIPLE

Deze test is gebaseerd op het vermogen van specifieke monoklonale antilichamen om zich te binden aan de antigene determinanten die tot expressie worden gebracht door leukocyten.

Permeabiliteit wordt geïnduceerd in de cytoplasmatische membranen van leukocyten voor het aantonen van intracellulaire antigeendeterminanten met behulp van monoklonale, fluorescente antilichamen. De leukocyten worden vervolgens geanalyseerd met flowcytometrie.

De flowcytometer meet de lichtdiffusie en de fluorescentie van cellen. Het maakt de afbakening van de betrokken populatie mogelijk binnen het elektronische venster gedefinieerd op een histogram, wat de orthogonale verspreiding van licht (zijwaartse verstrooiing of ZV) in verband brengt met de verspreiding van smalhoekig licht (voorwaartse verstrooiing of VV). Andere histogrammen die twee van de verschillende beschikbare parameters op de cytometer combineren, kunnen worden gebruikt als ondersteuning bij de gating-fase, afhankelijk van de door de gebruiker gekozen toepassing.

De fluorescentie van de afgeperkte cellen wordt geanalyseerd om de positief-gekleurde gebeurtenissen te onderscheiden van de niet-gekleurde. De resultaten worden uitgedrukt als een percentage van positieve gebeurtenissen ten opzichte van alle gebeurtenissen verzameld door de gating.

BEOOGDE GEBRUIKER

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik in het laboratorium.

KLINISCHE RELEVANTIE

Het CD79a-APC is een CD79a-antilichaam dat wordt gebruikt om door middel van flowcytometrie cellen te identificeren en te karakteriseren die het CD79a-antigeen tot expressie brengen. Dit product alleen kan niet worden gebruikt voor en is niet bedoeld voor de totstandbrenging van diagnostische conclusies.

Bij gebruik in combinatie met andere markers kan dit product worden gebruikt voor een of meer van de volgende functies:

- Ter ondersteuning van de differentiaaldiagnostiek bij patiënten met een hematologische afwijking met verdenking op het hebben van een hematopoiëtisch neoplasma en ter controle van patiënten met een bekend hematopoiëtisch neoplasma.

Zie de volgende referenties:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MONSTERS

Veneus bloed moet worden afgenoemt met steriele buisjes die EDTA-zout bevatten als anticoagulans.

De monsters moeten op kamertemperatuur (18-25 °C) worden gehouden en mogen niet worden geschud. De monsters moeten gehomogeniseerd worden door licht te schudden voordat het testmonster wordt afgenoemt.

De monsters moeten worden geanalyseerd binnen 24 uur van venapunctie.

CONCENTRATIE

Zie batch-specifiek analysecertificaat op www.beckman.com.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMATREGELEN

1. Gebruik het reagens niet na de uiterste houdbaarheidsdatum.
2. Niet invriezen.
3. Laat het op kamertemperatuur (18-25 °C) komen voor gebruik.
4. Beperk de blootstelling aan licht.
5. Vermijd microbiële verontreiniging van de reagentia, anders kunnen verkeerde resultaten optreden.

6. Antilichaamplossingen die natriumazide (NaN_3) bevatten moeten voorzichtig gehanteerd worden. Niet innemen en elk contact met huid, slijmvliezen en ogen vermijden.
In een zuur medium kan natriumazide bovendien de potentieel gevaarlijke waterstofazide vormen. Indien verwijdering nodig is, wordt het aanbevolen om het reagens te verdunnen in een groot volume water voordat het in het afvoersysteem wordt gegoten, om de accumulatie van natriumazide in metalen buizen en explosiegevaar te vermijden.
7. Alle bloedmonsters moeten worden beschouwd als mogelijk besmettelijk en moeten voorzichtig worden gehanteerd (met name: veiligheidshandschoenen, -jas en -bril dragen).
8. Pipetteer nooit met de mond en vermijd elk contact van de monster met huid, slijmvliezen en ogen.
9. Bloedbuisjes en wegwerpmateriaal die gebruikt zijn, moeten verwijderd worden in afvalcontainers bestemd voor verbranding.
10. Reagentia en afval moeten verwijderd worden volgens de plaatselijke voorschriften.

GHS GEVARENCLASSIFICATIE

Niet geklassificeerd als gevaarlijk



Het veiligheidsinformatieblad is beschikbaar op beckman.com/techdocs

OPSLAG EN STABILITEIT

Dit reagens moet tussen 2 en 8 °C en beschermd tegen licht worden bewaard, voor- en nadat het buisje wordt geopend.

Houdbaarheidsdatum van ongeopend buisje volgens stabiliteitsstudie: 730 dagen.

Stabiliteit van geopend buisje: het reagens is stabiel gedurende 180 dagen.

BEWIJS VAN BEDERF

Elke wijziging in de fysieke verschijning van de reagentia kan wijzen op aantasting; het reagens mag dan niet langer gebruikt worden.

Bel voor meer informatie, of als het product beschadigd is, met de klantenservice van Beckman Coulter op 800-742-2345 (VS of Canada) of neem contact op met uw plaatselijke vertegenwoordiger van Beckman Coulter.

INHOUD

Een conserveringsmiddel van natriumazide kan explosive verbindingen vormen in metalen afvoerleidingen. Zie NIOSH-bulletin: Explosive Azide Hazard (Explosiegevaar van azide, 16-08-1976).

Om de ophoping van azideverbindingen te vermijden, spoelt u de afvoerbuizen met water na verwijdering van onverdund reagens. Natriumazide moet worden verwijderd volgens de toepasselijke plaatselijke voorschriften.

BENODIGD MATERIAAL DAT NIET IS MEEGELEVERD IN DE KIT:

- Monsterbuisjes en materiaal vereist voor monsterneming.
- Automatische pipetten met wegwerppunten voor 10, 100 en 500 μL .
- Plastic hemolysebuisjes.
- Voor optimale resultaten worden beide van de volgende reagentia aanbevolen (volg de bijbehorende specifieke procedure):
 - IntraPrep-fixatie/permeabilisatiereagens (ref A07802 of A07803)
 - PerFix-nc-kit (geen centrifuge-testkit), voor intra- en extracellulaire kleuringsbereiding (ref. B31167 of B31168)
- Fixatiereagens voor leukocyten. Bijvoorbeeld: IOTest 3-fixeeroplossing (ref. A07800).
- Isotypecontrole APC: IOTest-reagens (ref. IM2475).
- Buffer (PBS: 0,01 M natriumfosfaat; 0,145 M natriumchloride; pH 7,2).
- Centrifugeer.
- Automatische schudder (vortextype).
- Flowcytometer.

PROCEDURE MET PERFIX-NC-REAGENS

Hieronder wordt de aanbevolen procedure voor gebruik met de PerFix-nc-kit (geen centrifugeassaykit) voor kleuringsvoorbereiding binnen en buiten de cel (ref B31167 of B31168) beschreven.

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. IM2475).

Kit voor reagentsbereiding

PerFix-nc buffer 1 en 2 reagentia

Reconstitutie is niet nodig. Beide reagentia kunnen direct uit het buisje worden gebruikt.

Bereiding van PerFix-nc-buffer 3-reagens

Bereid ex-tempore het uiteindelijke 1X-reagens.

Verdun de 10X geconcentreerde PerFix-nc-buffer 3 (laatste 10X oplossing) in gedeioniseerd water: 1 deel buffer 3 met 9 delen water. Meng goed voor gebruik. We raden aan alleen het laatste deel 1X reagens te gebruiken dat vereist is voor de experimenten van de dag.

1. Pipetteer 50 μL bloedmonster onder in elk juist gelabeld buisje. Zorg dat er geen bloed op de zijkant van het buisje komt omdat het anders niet juist zal worden verwerkt.
2. Pipetteer 5 or 25 μL van het fixeerreagens in elk buisje, afhankelijk van of een lage of hoge fixatie vereist is (raadpleeg de PerFix-nc-gebruiksaanwijzing voor nadere informatie over lage/hoge fixatieprotocollen).

3. Wervel onmiddellijk en incubeer gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (18-25 °C).
4. Wervel het gefixeerde bloed opnieuw en voeg 300 µL van het permeabilisatiereagens toe aan elk buisje. Wervel onmiddellijk.
5. Voeg aan elk buisje onmiddellijk 10 µL van de fluorochroom-geconjugeerde antilichamen tegen intracellulaire epitopen en oppervlaktemoleculen toe (de antilichamen kunnen ook vooraf worden gemengd in het permeabilisatiereagens en samen worden toegevoegd aan het einde van de fixatiestap).
6. Wervel onmiddellijk en incubeer gedurende 15-30 minuten bij kamertemperatuur.
7. Voeg 3 mL van het uiteindelijke 1X reagens (bereid met de 10X geconcentreerde uiteindelijke oplossing) toe aan elk buisje. Wervel onmiddellijk. Het monster is nu klaar voor analyse op een flowcytometer.

OPMERKING: de preparaten kunnen gedurende 24 uur voorafgaand aan de cytometrische analyse worden bewaard. Het is het raadzaam ze bij 2-8 °C te bewaren en tegen licht te beschermen.

PROCEDURE MET INTRAPREP-REAGENS

Onder de aanbevolen procedure voor gebruik met IntraPrep-fixatie-/permeabilisatiereagens (ref. A07802 of A07803).

Voor elk geanalyseerd monster kan, naast het testbuisje, één controlebuisje worden toegevoegd waarin de cellen worden gemengd in aanwezigheid van de isotypecontrole (ref. IM2475).

Optimale kleuring voor een bloedmonster wordt verkregen door een aantal leukocyten te gebruiken tussen 3 en 10×10^3 cellen/µL. Verdun als de leukocytconcentratie hoger is dan 10×10^3 cellen/µL (11).

1. Voeg 50 µL van het in EDTA verzamelde bloed toe aan elk buisje.
2. Voeg aan elk buisje 100 µL IntraPrep-reagens 1 (fixatie) toe
3. Wervel de buisjes 3 tot 5 seconden stevig.
4. Incubeer 15 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
5. Voeg 4 mL PBS toe aan elke buis.
6. Centrifugeer gedurende 5 minuten bij 300 x g op kamertemperatuur. Verwijder het supernaatant door opzuiging.
7. Voeg aan elke buis 100 µL IntraPrep-reagens 2 (permeabilisatie) toe. Laten mengen door diffusie. NIET WERVELEN.
8. Incubeer 5 minuten op kamertemperatuur zonder schudden.
9. Schud de buizen voorzichtig en handmatig gedurende 2 tot 3 seconden.
10. Voeg 10 µL specifiek IOTest-geconjugeerd antilichaam toe aan elk testbuisje en, indien nodig, 10 µL isotypecontrole aan elk controlebuisje.
11. Incubeer 15 tot 20 minuten op kamertemperatuur (18-25 °C), beschermd tegen licht.
12. Voeg 4 mL PBS toe en centrifugeer gedurende 5 minuten met 300 x g bij kamertemperatuur.
13. Verwijder het supernaatant door aspiratie en resuspendeer de celpellet in 0,5 tot 1 mL IOTest 3-fixeerplossing (ref. A07800) in de werkconcentratie (1X).
14. De bereidingen zijn klaar voor cytometrische analyse.

OPMERKING: als de preparaten langer dan 2 uur voor de cytometrische analyse moeten worden bewaard, is het raadzaam ze bij 2-8 °C te bewaren en tegen licht te beschermen. De aldus opgeslagen preparaten mogen echter niet langer dan 24 uur worden bewaard.

VERWACHTE WAARDEN

In onze laboratoria werden de volbloedmonsters van 25 ogenschijnlijk gezonde donoren behandeld met het hierboven beschreven reagens. De verkregen resultaten voor de telling van de relevante positieve gebeurtenissen voor dit reagens worden in de onderstaande tabel weergegeven:

PerFix-nc-lyseersysteem:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	10,98	4,13	37,60

IntraPrep-lyseersysteem:

Positieve target	Nummer	Gemiddeld (%)	SD	VC (%)
Lymfocyten	25	10,02	4,03	40,19

Deze waarden zijn uitsluitend bedoeld als referentie. Elk laboratorium moet zijn eigen verwachte waarden bepalen op basis van de lokale populatie van normale donoren.

PRESTATIES

Prestatiegegevens worden verkregen met de hierboven beschreven procedure op minder dan 24 uur oude bloedmonsters die eerder zijn verzameld in steriele buisjes met EDTA-zout als anticoagulans. De analyse wordt uitgevoerd binnen 2 uur na immunokleuring.

SPECIFICITEIT

Het CD79a-molecuul maakt deel uit van de CD79a-/CD79b-disulfide-gekoppelde heterodimeer, niet-covalent gebonden aan oppervlak-immunoglobulinen om B-celreceptoren (BCR) te vormen (12). De expressie van CD79a verschijnt vroeg in de ontogenie van B-cellen en de lokalisatie ervan in het pro-B-stadium is dus cytoplasmatisch. Later maakt CD79a deel uit van de BCR. De membraanexpressie ervan duurt tot het plasmocytische stadium, het stadium waarin de lokalisatie weer cytoplasmatisch wordt (13).

MAB HM47 reageert met een intracytoplasmatische epitool van het CD79a-molecuul (13). Het werd toegewezen aan CD79a tijdens de 5^e HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5e HLDA workshop over differentiatie-antigenen van humane leukocyten), gehouden in Boston in de VS in 1993 (WS-code: cB017, sectie B) (13).

PRECISIE

De procentuele positieve waarden werden bepaald met behulp van volbloed. Elk monster werd 4 maal getest, tweemaal per dag gedurende 1 dag op 2 instrumenten, waarbij gebruik werd gemaakt van 2 batches CD79a-APC monoklonale antilichaamreagentia. Metingen (% positief) werden uitgevoerd op de

Navios-flowcytometer. Analyse werd uitgevoerd op basis van de CLSI-methode EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Evaluatie van de precisie van kwantitatieve meetmethoden).

Onze acceptatiecriteria zijn afhankelijk van het aantal positieve gebeurtenissen dat voor elke populatie wordt gemeten:

- In het geval van een positieve gebeurtenis <1500, VC <15%
- In het geval van een positieve gebeurtenis >1500, VC <10%

PerFix-nc-lyseersysteem:

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 1026							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep-lyseersysteem:

Lymfocyten							
Aantal positieve gebeurtenissen (gemiddelde) = 880							
	Tussen gebruikers	Tussen cytometers	Van dezelfde batch	Tussen batches	Tussen runs	Tijdens run	Totaal
VC (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
RESULTATEN	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

NAUWKEURIGHEID

De nauwkeurigheid van CD79a-APC werd beoordeeld door de resultaten te vergelijken met een referentiereagens als het vergelijkbare hulpmiddel op een reeks volbloedmonsters die op een Navios-flowcytometer werden uitgevoerd. De afwijking tussen test- en referentiereagens werd bepaald op basis van het verschil tussen de testresultaten. Als de afwijking binnen het toegestane foutbereik ligt of de p-waarde geen significant verschil (>0,05) aangeeft, worden de testresultaten voor de twee reagentia als gelijkwaardig beschouwd.

De resultaten worden samengevat in de onderstaande tabel:

PerFix-nc-lyseersysteem:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	0,32	<3	0,005	PASS

IntraPrep-lyseersysteem:

Aantal donoren = 25				
Positieve target	Gemiddelde Δ	Δ % Celcriteria	p-waarde	RESULTATEN
Lymfocyten	0,09	<3	0,659	PASS

BLANCOLIMIET EN DETECTIELIMIET

Een studie is uitgevoerd in overeenstemming met CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Evaluatie van detectiecapaciteit voor meetprocedures in klinische laboratoria). Het detectielimiet (LOD) is de laagste concentratie analiet die consistent kan worden gedetecteerd. De verkregen resultaten worden samengevat in de volgende tabel:

PerFix-nc-lyseersysteem:

Positive Target	Blancolimiet (cel/ μ L)	Detectielimiet (cel/ μ L)
Lymfocyten	0	4

IntraPrep-lyseersysteem:

Positive Target	Blancolimiet (cel/ μ L)	Detectielimiet (cel/ μ L)
Lymfocyten	1	2

BEPERKINGEN

1. Flowcytometrie kan leiden tot verkeerde resultaten indien de cytometer niet perfect is uitgelijnd, indien fluorescentielekken niet juist zijn gecompenseerd en indien de gebieden niet zorgvuldig zijn gepositioneerd.
2. Nauwkeurige en reproduceerbare resultaten worden verkregen zolang de gebruikte procedures in overeenstemming zijn met de technische brochure en compatibel met goede laboratoriumpraktijken.
3. Het geconjugeerde antilichaam van dit reagens wordt gekalibreerd om de beste verhouding van specifiek signaal/niet-specifiek signaal te bieden. Daarom is het belangrijk dat de verhouding van reagensvolume/monstervolume in acht wordt genomen bij elke test.
4. In het geval van een hyperleukocytose verdunt u het bloed in PBS om een waarde van ongeveer 5×10^9 leukocyten/L te verkrijgen (11).
5. In sommige stadia van een aandoening, zoals ernstig nierfalen of hemoglobinopathieën, kan de ontbinding van rode cellen traag verlopen, onvolledig of zelfs onmogelijk zijn. In dit geval wordt het aanbevolen om cellen met één kern te isoleren met een dichtheidsgradiënt (bijvoorbeeld Ficoll) voorafgaand aan de kleuring (14).
6. Bij patiënten die worden behandeld met anti-humane monoklonale antilichaamtherapieën kan de detectie van de specifieke doelantigenen verminderd of afwezig zijn als gevolg van een gedeeltelijke of volledige blokkering door het therapeutische antilichaam.

7. De CD79a-APC-resultaten moeten worden geïnterpreteerd in het licht van het totale klinische beeld van de patiënt, met onder meer: symptomen, klinische anamnese, gegevens van aanvullende tests en andere relevante informatie.

Zie de bijlage voor voorbeelden en referenties.

Handelsmerken

Beckman Coulter, het gestileerde logo en de merken van Beckman Coulter-producten en -services in dit document zijn handelsmerken of gedeponeerde handelsmerken van Beckman Coulter, Inc. in de Verenigde Staten en andere landen.

AANVULLENDE INFORMATIE

Voor patiënten/gebruikers/derden in de EU en in landen met soortgelijke regelgeving (Verordening 2017/746/EU inzake in-vitro diagnostische medische apparaten); als er zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit apparaat een ernstig incident voordoet, dient u dit te melden bij de fabrikant en/of diens bevoegde vertegenwoordiger en bij uw nationale autoriteiten.

Het overzicht van de veiligheid en prestaties is beschikbaar in de database EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed

REVISIEGESCHIEDENIS

REVISIE AC:	Uitgiftedatum: Oktober 2019
HERZIENING	Uitgiftedatum
AW	Februari 2022
Bijgewerkt om te voldoen aan het wereldwijde etiketteringsbeleid van Beckman Coulter en volgens de vereisten van IVD-R (EU)2017/746:	
Toegevoegde paragrafen	BSI 2797-nummer, Beoogde gebruiker, Klinische relevantie, Concentratie, Precisie, Nauwkeurigheid, Blancolimiet en detectiegrens, Aanvullende informatie, Revisiegeschiedenis.
Toegevoegde informatie	Zie paragraaf Beperkingen
Bijgewerkte formulering of typografie	Zie paragrafen Procedure, Prestaties, Beperkingen, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen, Opslag en Stabiliteit.
Verwijderde paragrafen	Voorbeeld van klinische toepassingen, Reagentia, Reproduceerbaarheid intra-laboratoria, Lineariteit
Bijgewerkte paragrafen	Beoogd gebruik, GHS-gevarenclassificatie, Bewijs van bederf, Procedure, Bijlage.
HERZIENING	Uitgiftedatum
AX	
Bijgewerkte paragrafen	Toevoegen Kazachs
Bijgewerkte paragrafen	Opslag en stabiliteit

Verklaring van symbolen

Overzicht met verklaring van symbolen is beschikbaar op beckman.com/techdocs (documentnummer B60062)

	<u>Thông số kỹ thuật</u>
Độ đặc hiệu	CD79a
Dòng vô tính	HM47
Tế bào lai	NS1 x balb/c
Chất sinh miễn dịch	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Globulin miễn dịch	IgG1
Các loài	Chuột
Tinh chế	Sắc ký ái lực
Chất nhuộm huỳnh quang	Allophycocyanin (APC)
Tỷ lệ mol	APC/Ig: 0,5 - 1,5
Kích thích λ	633/638 nM
Định phát xạ	660 nM
Dung dịch đậm	PBS pH 7,2 cộng với 2 mg/mL BSA và 0,1% NaN ₃

Kháng thể cộng hợp IOTest CD79a-APC

[REF] B36287 100 xét nghiệm; 1 mL,
10 µL/xét nghiệm

Dùng để chẩn đoán *In Vitro*

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kháng thể cộng hợp chất nhuộm huỳnh quang này cho phép xác định theo phương thức định tính và không tự động các quần thể tế bào biểu hiện kháng nguyên CD79a có trong mẫu sinh học của người bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy (xem phần "Mẫu" bên dưới).

NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm này dựa trên khả năng liên kết của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với yếu tố quyết định kháng nguyên biểu hiện bởi bạch cầu.

Tính thấm được kích thích trong màng nguyên sinh của bạch cầu nhằm biểu thị yếu tố xác định kháng nguyên nội bào bằng các kháng thể huỳnh quang đơn dòng. Các bạch cầu sau đó sẽ được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy.

Máy đếm tế bào dòng chảy đo mức khuếch tán ánh sáng và phát huỳnh quang của các tế bào. Điều này giúp phân định được quần thể quan tâm trong cửa sổ điện tử được xác định trên biểu đồ, tương quan với sự khuếch tán trực giao ánh sáng (Tán xạ góc bên hay SS) và khuếch tán ánh sáng góc hẹp (Tán xạ góc thẳng hay FS). Có thể dùng các biểu đồ khác (kết hợp hai trong các thông số có sẵn trên máy đếm tế bào) để hỗ trợ trong giai đoạn khoanh vùng tùy thuộc vào ứng dụng mà người dùng chọn.

Huỳnh quang của các tế bào đã phân định được phân tích để phân biệt các sự kiện nhuộm dương tính với các sự kiện không nhuộm. Kết quả được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm số sự kiện dương tính so với tất cả sự kiện thu được từ việc khoanh vùng.

ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Sản phẩm này chỉ dùng cho mục đích chuyên môn trong phòng xét nghiệm.

TÍNH THÍCH HỢP VỀ LÂM SÀNG

CD79a-APC là một kháng thể CD79a dùng để nhận dạng và xác định đặc điểm của các tế bào biểu thị kháng nguyên CD79a bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Chỉ riêng sản phẩm này không thể và không tạo ra bất kỳ kết luận chẩn đoán nào.

Khi kết hợp với các chỉ dấu khác, có thể dùng sản phẩm này trong một hoặc nhiều chức năng sau:

- Để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt những bệnh nhân bị bất thường về huyết học nghi ngờ mắc ung thư máu và để theo dõi những bệnh nhân đã được xác định là mắc ung thư máu.

Xem tài liệu tham khảo sau đây:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

MẪU

Phải lấy mẫu máu tĩnh mạch vào ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA.

Phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng (18–25°C) và không lắc mẫu. Phải khuấy nhẹ mẫu trước khi lấy mẫu xét nghiệm để mẫu có trạng thái đồng nhất.

Phải phân tích các mẫu trong vòng 24 giờ sau khi lấy từ tĩnh mạch.

NỒNG ĐỘ

Xem Giấy chứng nhận phân tích theo lô cụ thể tại www.beckman.com.

CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

1. Không dùng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
2. Không làm đóng lạnh.
3. Để dung dịch trở về nhiệt độ phòng (18–25°C) trước khi sử dụng.
4. Giảm thiểu tiếp xúc với ánh sáng.
5. Tránh làm thuốc thử bị nhiễm khuẩn, nếu không, có thể dẫn đến kết quả sai.
6. Phải xử lý cẩn thận dung dịch kháng thể chứa natri azit (NaN₃). Không được uống và tránh mọi tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.

Ngoài ra, trong môi trường axit, natri azit có thể tạo thành axit hydrazoic nguy hiểm. Nếu cần phải thải bỏ, bạn nên pha loãng thuốc thử trong nhiều nước trước khi thải vào hệ thống thoát nước để tránh tích tụ natri azide trong ống kim loại và để tránh nguy cơ nổ.

7. Phải coi tất cả mẫu máu là có nguy cơ lây nhiễm và xử lý cẩn thận (cụ thể: đeo găng tay, mặc áo choàng và đeo kính bảo vệ).
8. Tuyệt đối không dùng pipet bằng miệng và tránh để mẫu tiếp xúc với da, niêm mạc và mắt.
9. Phải bô ống máu và vật liệu dùng một lần đã dùng để xử lý trong thùng chứa đặc biệt cho mục đích thiêu hủy.
10. Phải thải bỏ thuốc thử và chất thải theo yêu cầu của địa phương.

PHÂN LOẠI MỐI NGUY HIỂM THEO GHS

Không được phân loại là chất nguy hiểm



Bảng dữ liệu an toàn có sẵn tại beckman.com/techdocs

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỒN ĐỊNH

Phải bảo quản thuốc thử ở 2 đến 8°C và tránh ánh sáng, trước và sau khi mở ống.

Hạn sử dụng của ống khi chưa mở nắp theo nghiên cứu về độ ổn định: 730 ngày.

Độ ổn định của ống đã mở: thuốc thử ổn định trong 180 ngày.

BẰNG CHỨNG BIẾN CHẤT

Mọi sự biến đổi về vẻ ngoài của thuốc thử có thể là dấu hiệu suy giảm chất lượng và bạn không nên dùng thuốc thử đó.

Để biết thêm thông tin hoặc nếu bạn nhận được sản phẩm bị hỏng, hãy gọi điện cho Dịch vụ khách hàng của Beckman Coulter theo số 8007422345 (Hoa Kỳ hoặc Canada) hoặc liên hệ với Đại diện của Beckman Coulter tại địa phương bạn.

HÀM LƯỢNG

Chất bảo quản natri azit có thể hình thành hợp chất nổ trong ống dẫn bằng kim loại. Xem Thông Báo của Viện quốc gia về an toàn và sức khỏe nghề nghiệp (NIOSH): Explosive Azide Hazard (Nguy cơ nổ azit) (16/8/76).

Để tránh khả năng tích tụ hợp chất azit, hãy xả sạch các ống thải bằng nước sau khi xử lý vứt bỏ thuốc thử chưa pha loãng. Phải xử lý vứt bỏ natri azit theo đúng quy định sở tại.

VẬT LIỆU CẦN DÙNG (KHÔNG KÈM THEO BỘ THUỐC THỬ):

- Ống lấy mẫu và vật liệu cần dùng để lấy mẫu.
- Pipet tự động có đầu hút dùng một lần để lấy mẫu có thể tích 10, 100 và 500 µL.
- Ống chứa mẫu tan huyết bằng nhựa.
- Đề có được kết quả tối ưu, nên dùng một trong các thuốc thử sau (tuân theo quy trình đặc hiệu liên quan):
Thuốc thử Cố định/Thảm hóa IntraPrep (Số tham chiếu A07802 hoặc A07803)
Bộ PerFix-nc (không có bộ xét nghiệm ly tâm), để Chuẩn bị nhuộm nội bào và ngoại bào (Số tham chiếu B31167 hoặc B31168)
- Thuốc thử cố định Leucocyte. Ví dụ: Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800).
- Mẫu chứng âm APC: Thuốc thử IOTest (Số tham chiếu: IM2475).
- Dung dịch đệm (PBS: 0,01 Mol natri photphat; 0,145 Mol natri clorua; pH 7,2).
- Máy ly tâm.
- Máy trộn tự động (loại khuấy).
- Máy đếm tế bào dòng chảy.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ PERFIX-NC

Dưới đây là quy trình khuyến nghị dùng cho Bộ PerFix-nc (không có bộ xét nghiệm ly tâm) để Chuẩn bị nhuộm nội bào và ngoại bào (Số tham chiếu B31167 hoặc B31168).

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu IM2475).

Chuẩn bị bộ thuốc thử

Thuốc thử có chất đệm PerFix-nc 1 và 2

Không cần hoàn nguyên. Có thể sử dụng cả hai thuốc thử trực tiếp từ lọ.

Chuẩn bị Thuốc thử có chất đệm PerFix-nc 3

Chuẩn bị tùy ứng Thuốc thử cuối 1X.

Pha loãng Chất đệm PerFix-nc 3 cô đặc 10X (Dung dịch cuối 10X) vào nước khử ion: 1 phần Chất đệm 3 với 9 phần nước. Trộn đều trước khi sử dụng. Chúng tôi khuyên chỉ chuẩn bị lượng Thuốc thử cuối 1X cần dùng cho thí nghiệm trong ngày.

1. Dùng ống pipet hút 50 µL mẫu máu vào đáy mỗi ống được gắn nhãn phù hợp. Tránh đưa máu vào cạnh ống; nếu không, mẫu máu sẽ không được xử lý phù hợp.
2. Dùng ống pipet hút 5 or 25 µL Thuốc thử định hình vào từng ống tùy theo yêu cầu cố định thấp hay cao (tham khảo hướng dẫn sử dụng PerFix-nc để biết thêm chi tiết về định chuẩn cố định thấp/cao).
3. Khuấy ngay và ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng (18 – 25°C).
4. Lắc lại phần máu đã định hình và thêm 300 µL Thuốc thử tính thảm vào từng ống; lắc ngay.
5. Thêm ngay vào mỗi ống 10 µL kháng thể liên hợp với chất nhuộm huỳnh quang chống lại các quyết định kháng nguyên nội bào và các phân tử bề mặt (một cách khác, các kháng thể có thể được trộn trước vào Thuốc thử tính thảm và thêm tất cả vào cuối bước cố định).

- Lắc ngay và ủ trong 15–30 phút ở nhiệt độ phòng.
- Thêm 3 mL Thuốc thử cuối 1X (được chuẩn bị từ Dung dịch cuối cô đặc 10X) vào mỗi ống; lắc ngay; mẫu giờ đã sẵn sàng để phân tích trên máy đếm tế bào dòng chảy.

GHI CHÚ: Nếu có thể phải bảo quản các chế phẩm trong hơn 24 giờ trước khi phân tích đếm tế bào, nên bảo quản chúng ở 2–8°C và tránh ánh sáng.

QUY TRÌNH VỚI THUỐC THỬ INTRAPREP

Dưới đây là quy trình khuyến nghị dùng cho thuốc thử Cố định/Thẩm hóa IntraPrep (Số tham chiếu A07802 hoặc A07803).

Đối với mỗi mẫu phân tích, ngoài ống xét nghiệm, có thể thêm một ống kiểm chuẩn, trong đó tế bào được trộn với mẫu chứng âm (Số tham chiếu IM2475).

Đối với mẫu máu, có thể đạt kết quả nhuộm tối ưu bằng cách dùng lượng bạch cầu trong khoảng 3 và 10×10^3 tế bào/ μL . Nếu nồng độ bạch cầu lớn hơn 10×10^3 tế bào/ μL , hãy pha loãng.(11)

- Thêm 50 μL máu lấy mẫu trong EDTA vào từng ống.
- Thêm vào mỗi ống 100 μL thuốc thử IntraPrep 1 (Cố định)
- Lắc mạnh ống trong 3 đến 5 giây.
- Ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
- Thêm 4 mL PBS vào mỗi ống.
- Quay ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 300 x g tại nhiệt độ phòng. Hút bỏ dịch nổi.
- Thêm vào mỗi ống 100 μL thuốc thử IntraPrep 2 (Thẩm hóa). Trộn bằng cách khuếch tán. KHÔNG LẮC.
- Ủ trong 5 phút ở nhiệt độ phòng mà không lắc.
- Lắc các ống cẩn thận và thủ công trong 2 đến 3 giây.
- Thêm 10 μL kháng thể cộng hợp IOTest đặc hiệu vào mỗi ống xét nghiệm và nếu cần, 10 μL mẫu chứng âm vào từng ống kiểm chuẩn.
- Ủ trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng (18–25°C), tránh ánh sáng.
- Thêm 4 mL PBS và quay ly tâm ở tốc độ 300 x g trong 5 phút tại nhiệt độ phòng.
- Hút bỏ dịch nổi và tái huyền phù viên tế bào trong 0,5 đến 1 mL Dung dịch cố định IOTest 3 (Số tham chiếu A07800) ở nồng độ làm việc (1X).
- Các chế phẩm đã sẵn sàng để phân tích đếm tế bào.

GHI CHÚ: Nếu phải bảo quản các chế phẩm trong hơn 2 giờ trước khi phân tích đếm tế bào, nên bảo quản chúng ở 2–8°C và tránh ánh sáng. Tuy nhiên, không được giữ lại các chế phẩm đã bảo quản trong hơn 24 giờ.

GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Trong phòng xét nghiệm của chúng tôi, mẫu máu toàn phần của 25 người hiến khỏe mạnh được điều trị bằng thuốc thử mô tả ở trên. Bảng dưới đây trình bày kết quả đếm số lượng sự kiện dương tính quan tâm với thuốc thử này:

Hệ thống ly giải PerFix-nc:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	10,98	4,13	37,60

Hệ thống ly giải IntraPrep:

Mục tiêu dương tính	Số	Giá trị trung bình (%)	SD	CV (%)
Tế bào lympho	25	10,02	4,03	40,19

Các giá trị sau chỉ có tính chất đại diện. Mỗi phòng xét nghiệm phải thiết lập giá trị dự kiến riêng từ quần thể người hiến bình thường của mình.

HIỆU SUẤT

Dữ liệu hiệu suất thu được bằng cách sử dụng quy trình mô tả ở trên với các mẫu máu được thu thập dưới 24 giờ trong các ống vô trùng sử dụng chất kháng đông bằng muối EDTA. Phân tích trong vòng 2 giờ sau khi nhuộm hóa mô miễn dịch.

ĐỘ ĐẶC HIỆU

Phân tử CD79a là một phần của dị dimer liên kết disunphua CD79a/CD79b, liên kết không cộng hóa trị với globulin miễn dịch bề mặt để hình thành thụ thể tế bào B (BCR) (12). Biểu hiện của CD79a xuất hiện sớm trong quá trình phát sinh cá thể của tế bào B. Do đó, nơi khu trú của CD79a ở giai đoạn tiền B là bào tương. Về sau, CD79a hình thành một phần của BCR. Biểu hiện màng của CD79a tồn tại đến giai đoạn tương bào, giai đoạn mà nơi khu trú của CD79a một lần nữa trở thành bào tương (13).

MAb HM47 phản ứng với một yếu tố quyết định kháng nguyên trong bào tương của phân tử CD79a (13). MAb HM47 được chỉ định cho CD79a tại HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Hội thảo HLDA về Kháng nguyên biệt hóa bạch cầu ở người) lần thứ 5 được tổ chức tại Boston, Hoa Kỳ, năm 1993 (Mã WS: cB017, Phần B) (13).

ĐỘ CHUM

Tỷ lệ phần trăm của các giá trị dương tính được xác định bằng cách sử dụng máu toàn phần. Mỗi mẫu được chạy 4 lần, hai lần một ngày trong 1 ngày trên 2 thiết bị sử dụng 2 lô thuốc thử kháng thể đơn dòng CD79a-APC. Các phép đo (% dương tính) được thực hiện trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Phân tích được tiến hành theo phương pháp EP5-A2 của CLSI: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Đánh giá hiệu suất độ chụm của phương pháp đo định lượng).

Tiêu chí chấp nhận của chúng tôi phụ thuộc vào số lượng sự kiện dương tính đo được cho mỗi quần thể:

- Nếu sự kiện dương tính <1.500, CV <15%
- Nếu sự kiện dương tính >1.500, CV <10%

Hệ thống ly giải PerFix-nc:

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 1026							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,79	0,95	3,88	1,03	1,73	2,97	4,13
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

Hệ thống ly giải IntraPrep:

Tế bào lympho							
Số sự kiện dương tính (Giá trị trung bình) = 880							
	Giữa những người thao tác	Giữa các máy đếm tế bào	Trong lô	Giữa các lô	Giữa các lần chạy	Trong lần chạy	Toàn phần
CV (%)	1,24	2,36	4,79	1,22	2,36	3,98	5,48
KẾT QUẢ	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ĐỘ CHÍNH XÁC

Độ chính xác của CD79a-APC được đánh giá bằng cách so sánh kết quả với thuốc thử tham chiêu để khẳng định trên một tập hợp các mẫu máu toàn phần chạy trên máy đếm tế bào dòng chảy Navios. Độ lệch giữa xét nghiệm và thuốc thử tham chiêu được xác định dựa trên sự chênh lệch giữa các kết quả xét nghiệm. Nếu độ lệch nằm trong phạm vi sai số cho phép hoặc giá trị p cho thấy không có sự khác biệt đáng kể ($> 0,05$), thì kết quả xét nghiệm cho hai thuốc thử được coi là tương đương.

Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Hệ thống ly giải PerFix-nc:

Số người hiến = 25	Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	0,32	<3	0,005	PASS	

Hệ thống ly giải IntraPrep:

Số người hiến = 25	Mục tiêu dương tính	Giá trị trung bình Δ	Tiêu chí tế bào Δ %	giá trị p	KẾT QUẢ
Tế bào lympho	0,09	<3	0,659	PASS	

GIỚI HẠN TRỐNG VÀ GIỚI HẠN PHÁT HIỆN

Một nghiên cứu đã được thực hiện theo CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Đánh giá khả năng phát hiện cho các quy trình đo lường trong phòng xét nghiệm lâm sàng). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ thấp nhất của chất phân tích có thể phát hiện một cách nhất quán. Kết quả thu được sẽ được tóm tắt trong bảng sau:

Hệ thống ly giải PerFix-nc:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/ μ L)	Giới hạn phát hiện (tế bào/ μ L)
Tế bào lympho	0	4

Hệ thống ly giải IntraPrep:

Positive Target	Giới hạn trống (tế bào/ μ L)	Giới hạn phát hiện (tế bào/ μ L)
Tế bào lympho	1	2

GIỚI HẠN

- Phương pháp đếm tế bào dòng chảy có thể cho kết quả sai nếu điều chỉnh máy đếm tế bào không phù hợp, nếu mức bù huỳnh quang rò rỉ không phù hợp và nếu định vị các vùng không cẩn thận.
- Sẽ thu được kết quả chính xác và có thể tái lặp nếu sử dụng quy trình theo tờ hướng dẫn kỹ thuật và phù hợp với biện pháp xét nghiệm hợp lý.
- Kháng thể công hợp của thuốc thử này được hiệu chuẩn để đưa ra tỷ lệ tín hiệu đặc hiệu/tín hiệu không đặc hiệu tốt nhất. Do đó, điều quan trọng là phải tuân thủ tỷ lệ thể tích thuốc thử/thể tích mẫu trong mỗi xét nghiệm.
- Trong trường hợp tăng bạch cầu, hãy pha loãng máu trong PBS để thu được giá trị xấp xỉ 5×10^9 bạch cầu/L (11).
- Trong một số tình trạng bệnh, chẳng hạn như suy thận nặng hoặc bệnh rối loạn máu, hồng cầu có thể ly giải chậm, ly giải không hoàn toàn, hoặc thậm chí là không thể ly giải. Trong trường hợp này, bạn nên phân lập tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng (ví dụ: Ficoll) trước khi nhuộm (14).
- Ở những bệnh nhân được điều trị bằng các liệu pháp kháng thể đơn dòng kháng người, khả năng phát hiện các kháng nguyên mục tiêu đặc hiệu có thể giảm đi hoặc không xảy ra do bị kháng thể điều trị chặn một phần hoặc toàn bộ.
- Phải diễn giải kết quả CD79a-APC dựa trên toàn bộ các dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhân, bao gồm: triệu chứng, tiền sử lâm sàng, dữ liệu từ các xét nghiệm khác và thông tin thích hợp khác.

Xem Phụ lục để biết ví dụ và tài liệu tham khảo.

NHÃN HIỆU

Beckman Coulter, logo cách điệu và các nhãn hiệu sản phẩm cũng như dịch vụ của Beckman Coulter nêu trong tài liệu này là nhãn hiệu hoặc nhãn hiệu đã đăng ký của Beckman Coulter, Inc. ở Hoa Kỳ và các quốc gia khác.

THÔNG TIN BỔ SUNG

Đối với bệnh nhân/người dùng/bên thứ ba tại Liên minh Châu Âu và ở các quốc gia có chế độ quản lý giống nhau (Quy định 2017/746/EU về Thiết bị y tế chẩn đoán In vitro); nếu xảy ra sự cố nghiêm trọng trong quá trình sử dụng thiết bị này hoặc do sử dụng thiết bị này, vui lòng báo cáo cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện ủy quyền của nhà sản xuất cũng như cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

Summary of Safety and Performance (Tóm tắt về an toàn và hiệu suất) có trong cơ sở dữ liệu EUDAMED: ec.europa.eu/tools/eudamed.

LỊCH SỬ SỬA ĐỒI

PHIÊN BẢN AC:	Ngày phát hành: Tháng 10 năm 2019
PHIÊN BẢN	Ngày phát hành
AW	Tháng 02 năm 2022
Cập nhật để tuân thủ Chính sách ghi nhãn toàn cầu của Beckman Coulter và theo các yêu cầu IVD-R (EU) 2017/746:	
Bổ sung các phần	Số BSI 2797, Đổi tượng sử dụng, Tính thích hợp về lâm sàng, Nồng độ, Độ chụm, Độ chính xác, Giới hạn trống và giới hạn phát hiện, Thông tin bổ sung, Lịch sử sửa đổi.
Bổ sung thông tin	Xem các phần Giới hạn
Cập nhật cách diễn đạt hoặc câu chữ	Xem các phần Quy trình, Hiệu suất, Giới hạn, Cảnh báo và Biện pháp phòng ngừa, Bảo quản và Độ ổn định.
Các phần bị xóa	Ví dụ về các ứng dụng lâm sàng, Thuốc thử, Khả năng tái lập trong phòng xét nghiệm, Độ tuyển tính
Các phần cập nhật	Mục đích sử dụng, Phân loại mối nguy hiểm theo GHS, Bằng chứng biến chất, Quy trình, Phụ lục.
PHIÊN BẢN	Ngày phát hành
AX	
Các phần cập nhật	Thêm tiếng Kazakh
Các phần cập nhật	Bảo quản và độ ổn định

Bảng chú giải các ký hiệu

Danh mục thuật ngữ ký hiệu có sẵn tại beckman.com/techdocs (số tài liệu B60062)

	Сипаттамалары
Ерекшелік	CD79a
Клон	HM47
Гибридома	NS1 x balb/c
Иммуноген	Synthetic peptide (amino acids 202 - 216) of human mb-1 protein containing the cyto-plasmic portion
Иммунды глобулин	IgG1
Түрлери	Тышқан
Тазарту	Үйірлік хроматография
Флуорохром	Allophycocyanin (APC)
Молярлық қатынасы	APC / Ig: 0.5 - 1.5
λ қозу	633/638 нм
Эмиссияның жоғарғы шегі	660 нм
Буфер	PBS pH 7,2 + 2 мг / мл BSA және 0,1% NaN ₃

Конъюгацияланған IOTest антиденесі CD79a-APC

[REF] В36287 100 сынақ; 1 мл, 10 мкл /
сынақ

In Vitro диагностикасында пайдалануға арналған

ПАЙДАЛАНУ МАҚСАТЫ

Бұл флуорохроммен конъюгацияланған антидене адамның биологиялық үлгілерінде CD79a антигеннің болуын көрсететін жасуша популяциясын анын цитометриясы көмегімен сапалы және автоматтандырылмаған анықтауға мүмкіндік береді (төмендегі «Үлгілер» бөлімін қараңыз).

ҚАҒИДА

Бұл сынақ нақты моноклоналды антиденелердің лейкоциттер айқындастын антигендік детерминанттармен байланысу қабілетіне негізделген.

Моноклоналды флуоресцентті антиденелер көмегімен жасушаішлік антигендік детерминанттарды көрсету үшін лейкоциттердің цитоплазмалық мембраннында өткізгіштік пайда болады. Содан соң лейкоциттерге ағын цитометриясы арқылы талдау жасалады.

Ағын цитометрі жарық диффузиясы мен жасушалардың флуоресценттенуін өлшейді. Бұл гистограммада анықталған электронды терезеде қызығушылық популяциясын ажыратуға мүмкіндік береді, ол жарықтың ортоғональды диффузиясын (буйірлік шашырау немесе SS) және тар бұрышты жарықтың диффузиясын (тікелей шашырау немесе FS) байланыстырады. Цитометрде қолжетімді екі түрлі параметрді біріктіретін басқа гистограммаларды пайдалануши таңдаған қолданбаға байланысты гейтинг кезеңінде тірек ретінде пайдалануға болады.

Оң боялған оқиғаларды боялмаған оқиғалардан ажырату үшін шектеулі жасушалардың флуоресценттенуіне талдау жүргізілді. Оның нәтижесі оң оқиғалардың гейтинг арқылы алынған барлық оқиғаларға қатынасының пайыздық көрсеткіші ретінде көрсетіледі.

МАҚСАТТЫ ПАЙДАЛАНУШЫ

Бұл өнім зертханалық жағдайда көсіби пайдалануға арналған.

КЛИНИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ

CD79a-APC – ағын цитометриясы арқылы CD79a антигенин экспрессиялайтын жасушаларды сәйкестендіру және сипаттау үшін пайдаланылатын CD79a антиденесі. Бұл өнімді жалғыз өзін пайдаланып қандай да бір диагностикалық қорытынды жасау мүмкін емес және жасауға арналмаған.

Басқа маркерлермен бірлесіп пайдаланылғанда, бұл өнімді келесі функциялардың біреуінде немесе бірнешеуінде пайдалануға болады:

- Гемопоэтикалық неоплазмаға күдікті гематологиялық аномальды пациенттерді дифференциалды диагностикалауға көмектесу және белгілі гемопоэтикалық неоплазмасы бар пациенттерді бақылау үшін.

Келесі анықтамаларды қараңыз:

1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10

ҮЛГІЛЕР

Көктамыр қанын антикоагулянт ретінде EDTA тұзы бар стерильді түтіктердің көмегімен алу керек.

Үлгілерді бөлме температурасында (18–25°C) сақтау керек және оларды шайқауға болмайды. Үлгілерді сынақ үлгісін алмастан бұрын женіл араластыру жолымен гомогендеу керек.

Үлгілерді көк тамырды тескен соң 24 сағат ішінде талдау қажет.

КОНЦЕНТРАЦИЯ

Нақты топтама бойынша талдау сертификатын мына сайттан қараңыз www.beckman.com.

ЕСКЕРТУ ЖӘНЕ САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

- Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін реагентті қолдануға болмайды.
- Қатыруға болмайды.
- Оны пайдаланбас бұрын, температурасының бөлме температурасына (18–25°C) жетуін күтіңіз.
- Жарық әсерін азайтыңыз.
- Реагенттердің микробтармен ластануына жол берменіз немесе жалған нәтижелер орын алуы мүмкін.
- Құрамында натрий азиды бар антидене ерітінділермен (NaN₃) жұмыс істегендеге абай болу керек. Ішке қабылдамаңыз. Теріге, шырышты қабықта және көзге тиігізбеніз.

Оған қоса, қышқылды ортада натрий азиды ықтимал қауіпті азотты сутек қышқылын түзуі мүмкін. Оны жою қажет болған жағдайда реагентті алдымен судың көп мөлшерінде сұйылтып, артынан көріз жүйесіне тәгуге кенес беріледі. Осылайша, натрий азидының металл құбырларда жиналауды болдырмай, жарылғыс қаупінің алдын алуға болады.

7. Қанның барлық үлгілері ықтимал жұқапалы деп есептелуі және сақтықпен өнделуі (атап айтқанда: қорғаныс қолғабын, халат және көзілдірік киу) керек.
8. Ешқашан оны аузыңызға құймаңыз және үлгілерді теріге, шырышты қабықта және көзге тигізбеніз.
9. Өңдеу үшін пайдаланылатын қан тұтіктері мен бір реттік материалдарды өртеуге арналған арнайы контейнерлерге тастау керек.
10. Реагенттер мен қалдықтар жергілікті талаптарға сәйкес жойылуы тиіс.

GHS ҚАУІПТЕР КЛАССИФИКАЦИЯСЫ

Қауіпті деп жіктелмейді



Қауіпсіздік төлкүжаты beckman.com/techdocs мекенжайында қолжетімді

САҚТАУ ЖӘНЕ ТҰРАҚТЫЛЫҚ

Құтыны ашпай тұрып және оны ашқаннан кейін, бұл реагентті 2–8°C температурада жарықтан қорғалған жерде сақтау керек.

Тұрақтылық зерттеуінде сәйкес жабық күйіндегі сауыт сересінің жарамдылық мерзімі: 730 қундер.

Ашық құтының тұрақтылығы: реагент 180 күн бойы тұрақты болады.

ЗАҚЫМДАЛУ БЕЛГЛЕРИ

Реагенттердің сыртқы түрінің кез келген өзгерісі олардың зақымдалғандығын көрсетуі мүмкін және реагентті пайдаланбаған жөн.

Қосымша ақпарат алу үшін немесе зақымдалған өнімді алған жағдайда 800-742-2345 (АҚШ немесе Канада) арқылы Beckman Coulter тұтынушыларға қызымет көрсету орталығына қонырау шалыңыз немесе жергілікті Beckman Coulter компаниясының өкіліне хабарласыңыз.

МАЗМУНЫ

Натрий азиді консервантты металдан жасалған құбыр желілерінде жарылғыш қосылыстар түзуі мүмкін. NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76) (NIOSH бюллетенін қараныз: азидтердің жарылу қаупі (16.08.1976)).

Азид қосылыстарының ықтимал түзілудің болдырмаса үшін сұйылтылмаған реагентті жойғаннан кейін су құбырларын шайыңыз. Натрий азидін жою тиісті жергіліктерді ережелерге сәйкес жүзеге асырылуы тиіс.

ҚАЖЕТТИ, БІРАҚ ЖИНАҚПЕН БІРГЕ ЖЕТКІЗІЛМЕГЕН МАТЕРИАЛДАР

- Үлгі алу тұтіктері және үлгі алу үшін қажетті материал.
- 10, 100 және 500 мкл ерітінділерге арналған бір реттік ұшы бар автоматты тамызғыштар.
- Эритроциттер гемолизіне арналған пластикалық тұтіктер.
- Оңтайлай нәтижелер алу үшін келесі реагенттерді пайдалану ұсынылады (тиісті арнайы процедураны орындаңыз): IntraPrep Fixation/Permeabilization реагенті (Сілт. A07802 немесе A07803)
PerFix-nc жинағы (центрифугада талдауға арналған жинақсыз), жасушаішлік және жасушадан тыс бояуға дайындық үшін арналады (келесіні қараныз: B31167 немесе B31168)
- Лейкоцит фиксация реагенті. Мысалы: IOTest 3 бекіту ерітіндісі (A07800 қараныз).
- Изотиптік бақылау APC: IOTest реагенті (анық. IM2475).
- Буфер (PBS: 0,01 М натрий фосфаты; 0,145 М натрий хлориді; pH 7,2).
- Центрифугалау
- Автоматты араластырыш (араластырыш түрі).
- Ағын цитометрі.

PERFIX-NC РЕАГЕНТІ КӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Төменде PerFix-nc жиынтығымен (центрифугада талдауға арналған жиынтықсыз) пайдалану үшін ұсынылған процедурадан кейін жасушаішлік және жасушадан тыс бояуға дайындық (анық. B31167 немесе B31168).

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ тұтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен араласатын бір бақылау тұтігін пайдалану ұсынылады (анық. IM2475).

Реагенттердің дайындау жинағы

1 PerFix-nc буфері және 2 реагент

Қайта қалпына келтіру қажет емес. Екі реагентті де тікелей құтыдан пайдалануға болады.

PerFix-nc 3-буфер реагенттің дайындау

Түпкілікті 1X реагенттің жедел дайындаңыз.

10X концентрацияланған PerFix-nc 3 буферін (түпкілікті 10X ерітіндісі) дистильденген суда сұйылтыңыз: 3 буферінің 1 көлемін 9 су көлемімен. Пайдаланарап алдында жақынап араластырыңыз. Бір күнде тәжірибе жүргізу үшін қажетті түпкілікті 1X реагенттің 1 көлемін ғана дайындау ұсынылады.

1. Тиісті таңбасы бар әр түтіктің түбіне 50 мкл қан үлгісін тамызыңыз. Түтіктің жан жағына қан үлгісін жақпаңыз; әйтпеген жағдайда, ол дұрыс өндемлейді.
2. Бекіткіш реагенттің 5 ог 25 мкл мөлшерін төмен немесе жоғары бекіту қажеттілігіне сәйкес әрбір түтікке тамызыңыз (төмен/жоғары бекіту хаттамалары туралы мөліметтерді PerFix-nc пайдалану нұсқауынан қараныз).
3. Дереке араластырып, бөлме температурасында (18–25°C) 15 минут бойы инкубацияланыз.

- Бекітілген қанды қайта арапастырып, әр түтікке 300 мкл permeabilization реагентті қосыныз; дереу арапастырыңыз.
- Әр түтікке жасушаішлік эпитоптар мен беткі молекулаларға қарсы 10 мкл флуорохроммен конъюгацияланған антиденелерді дереу қосыныз (басқаша жағдайда антиденелерді permeabilization реагенттімен алдын ала арапастырып, бекіту қадамының соында толығымен қосады).
- Дереу арапастырыңыз және бөлме температурасында 15–30 минут бойы инкубацияланың.
- Әр түтікке 3 мл түпкілікті 1X реагенттін (10X концентрациясындағы түпкілікті ерітіндіден дайындалған) қосыныз; дереу арапастырыңыз; енді үлгін ағын цитометрінде талдауға болады.

ЕСКЕРТПЕ: препараттарды цитометриялық талдауға дейін 24 сағат бойы сақтауға болады, оларды 2–8°C температурада және жарықтан қорғалған жерде сақтау ұсынылады.

INTRAPREP РЕАГЕНТИ ҚӨМЕГІМЕН ОРЫНДАЛАТЫН ПРОЦЕДУРА

Төменде IntraPrep Fixation/Permeabilization реагенттімен (Сілт. A07802 немесе A07803) бірге пайдаланудың ұсынылатын процедурасы берілген.

Әрбір талданатын үлгі үшін сынақ түтігіне қосымша, жасушалар изотиптік бақылаудың қатысуымен арапасатын бір бақылау түтігін пайдалану ұсынылады (анық. IM2475).

Қан үлгісінің оңтайлы бояуын 3 және 10×10^3 жасуша / мкл концентрациясы арапалығындағы лейкоциттер саны арқылы алуға болады. Егер лейкоциттер концентрациясы 10×10^3 жасуша / мкл концентрациясынан үлкен болса, оны сұйылтыңыз (11).

- Әр түтікті EDMS қышқылына сынақ үлгісінің 50 мкл мөлшерін қосыныз.
- Әрбір түтікке 100 мкл 1 IntraPrep реагенттін қосыныз (бекіту)
- Түтіктерді 3–5 секунд бойы қатты арапастырыңыз.
- Жарықтан қорғалған бөлме температурасында ($18\text{--}25^\circ\text{C}$) 15 минут инкубацияланың.
- Әр түтікке 4 мл PBS ерітіндісін қосыныз.
- 300 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз. Супернатантты аспирация қемегімен алып тастаңыз.
- Әрбір түтікке 100 мкл 2 IntraPrep реагенттін (permeabilization) қосыныз. Диффузия арқылы арапасуы тиіс. АРАЛЫСТЫРУФА БОЛМАЙДЫ.
- Бөлме температурасында 5 минут бойы шайқамай инкубацияланың.
- Түтіктерді қолмен 2-3 секунд ақырындан шайқаңыз.
- Әрбір түтікке 10 мкл арнайы конъюгацияланған IOTest антиденесін және, қажет болса, әрбір сынақ түтігіне 10 мкл изотиптік бақылауды қосыныз.
- Жарықтан қорғалған бөлме температурасында ($18\text{--}25^\circ\text{C}$) 15–20 минут инкубацияланың.
- 4 мл PBS қосып, 300 x г шамасында 5 минут бойы бөлме температурасында центрифугалаңыз.
- Супернатантты аспирация қемегімен алып тастаңыз да, IOTest 3 бекіту ерітіндісінің (A07800 қараныз) 0,5–1 мл мөлшеріндегі жасуша массасын өзінің жұмыс концентрациясына (1X) қайта ерітіңіз.
- Препараттар цитометрлік талдау жүргізуге дайын.

ЕСКЕРТПЕ: егер препараттарды цитометриялық талдауға дейін 2 сағаттан артық сақтау керек болса, оларды 2–8°C температурада және жарықтан қорғалған жерде сақтау ұсынылады. Алайда, осылайша сақталған препараттар 24 сағаттан артық сақталмайды.

КҮТИЛЕТІН МӘНДЕР

Біздің зертханаларда 25 тиісті дені сай донорлардан жана алынған қан үлгілері жоғарыда сипатталған реагентпен өндеді. Осы реагентпен қызығушылық тудыратын он оқиғаларды санау үшін алынған нәтижелер төменде кестеде көлтірілген:

PerFix-nc лизис жүйесі:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	10.98	4.13	37.60

IntraPrep лизис жүйесі:

Оңтайлы нысана	Сан	Орташа мән (%)	SD	CV (%)
Лимфоциттер	25	10.02	4.03	40.19

Бұл мәндер тек ұсыну үшін арналған. Әр зертхана қалыпты донорлардың жергілікті популяциясынан күтілетін өзіндік мәндерді белгілеу керек.

ӨНІМДІЛІК

Өнімділік жөніндегі деректер 24 сағаттық үлгілерді пайдаланып, жоғарыда сипатталған процедура арқылы алынады. Бұл үлгілер алдын ала антикоагулант ретінде EDTA тұзы арқылы стерильді түтіктерге жиналады. Талдау иммундық бояудан соң 2 сағат ішінде жасалады.

ЕРЕКШЕЛІГІ

CD79a молекуласы В жасушалы рецепторларын (BCR) тұзу үшін беткі иммундық глобулиндерге ковалентті емес байланысқан, дисульфидпен байланысатын CD79a / CD79b гетеродимерінің бөлігі болып табылады (12). CD79a айқындалуы В жасушалары онтогенезінің бастапқы кезеңдерінде көрінеді, сол себепті оның про-В кезеңіндегі локализациясы цитоплазмалық болып табылады. Нәтижесінде CD79a антигені BCR бөлігін түзеді. Оның мембраналық айқындалуы плазмоцит кезеңіне дейін сақталады және осы кезеңде оның локализациясы қайтадан цитоплазмалық болады (13).

MAb HM47 CD79a (13) молекуласының интрацитоплазмалық эпитетопымен әрекеттеседі. Ол 1993 жылы АҚШ-тың Бостон қаласында өткен 5^{ші} HLDA Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens («Адам лейкоциттерінің дифференциация антигендері» атты HLDA семинары) кезінде CD79a антигеніне жатқызылды (WS коды: cB017,) (13).

ДӘЛДІК

Оң мәндердің пайызы жаңа алынған қанды қолдану арқылы анықталды. Әрбір үлгі CD79a-APC моноклоналды антидене реагенттің 2 топтамасын пайдаланып 2 аспапта 1 күн бойы күніне екі рет 4 рет талданды. Өлшемдер (% он) Navios ағын цитометрінде жүргізілді. Талдау CLSI EP5-A2 әдісі негізінде жүргізілді: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Сандық өлшеу әдістерінің дәлдік өнімділігін бағалау).

Біздің қабылдау критерийлері әрбір популяция үшін өлшенген оң оқиғалардың санына байланысты:

- Оң оқиға болса <1500, CV <15%
- Оң оқиға болса >1500, CV <10%

PerFix-nc лизис жүйесі:

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 1026							
	Аралық оператор	Цитометрапаралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1.79	0.95	3.88	1.03	1.73	2.97	4.13
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

IntraPrep лизис жүйесі:

Лимфоциттер							
Оң оқиғалар саны (Орташа мән) = 880							
	Аралық оператор	Цитометрапаралық	Топтама ішілік	Топтама аралық	Жүгіру арасында	Жүгіру ішінде	Жалпы
CV (%)	1.24	2.36	4.79	1.22	2.36	3.98	5.48
НӘТИЖЕЛЕР	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS	PASS

ДҮРҮСТІҮК

CD79a-APC дұрыстығы Navios ағын цитометрінде өндөлген жаңа алынған қан үлгілерінің жинағындағы, предикат ретінде анықтамалық реагенттеп нәтижелерді салыстыру арқылы бағаланған. Сынақ пен анықтамалық реагент арасындағы ауытқу, сынақ нәтижелері арасындағы айырмашылық негізінде анықталған. Егер қателік рұқсат етілген қателер ауқымында болса немесе р-мәні айтарлықтай айырмашылықты көрсетпесе (>0,05), онда екі реагенттің сынау нәтижелері баламалы болып саналады.

Алынған нәтижелер келесі кестеде толық көрсетілген:

PerFix-nc лизис жүйесі:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	0.32	<3	0.005	PASS

IntraPrep лизис жүйесі:

Донорлар саны = 25				
Оңтайлы нысана	Орташа мән Δ	Δ % Жасуша критерийлері	p-мәні	НӘТИЖЕЛЕР
Лимфоциттер	0.09	<3	0.659	PASS

БОС СЫНАМА ШЕГІ ЖӘНЕ АНЫҚТАУ ШЕГІ

Зерттеу CLSI EP17-A2, Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (CLSI EP17-A2, клиникалық зертханалық өлшеу процедураларын анықтау мүмкіндігін бағалау) нұсқауына сәйкес жүргізілді. Анықтау шегі (LOD) – бұл рет-ретімен анықтауға болатын аналиттің ен тәмен концентрациясы. Алынған нәтижелер келесі кестеде жинақталған:

PerFix-nc лизис жүйесі:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	0	4

IntraPrep лизис жүйесі:

Positive Target	Бос сынама шегі (жасуша/мкл)	Анықтау шегі (жасуша/мкл)
Лимфоциттер	1	2

ШЕКТЕУЛЕР

1. Цитометр дұрыс бапталмаған, флуоресценттенудің ағып кетуі дұрыс өтелмеген және аймақтар мүқият орналастырмадан жағдайда, ағын цитометриясы қате нәтижелер беруі мүмкін.
2. Жүргізілген процедурапар техникалық нұсқау брошюрасына сәйкес және тиісті зертханалық тәжірибемен үйлесімді болған жағдайда ғана дұрыс, ері жаңғыртылуы мүмкін нәтижелерді алуға болады.
3. Осы реагенттің конъюгацияланған антиденесі арнайы сигнал мен арнайы емес сигналдың ең жақсы қатынасын қамтамасыз ететіндей калибрленген. Сондықтан әрбір сынақты жүргізгенде реагент көлемінің үлгі көлеміне қатынасын сактау маңызды.
4. Гиперлейкоцитоз жағдайында шамамен 5×10^9 лейкоцит/л (11) мәнін алу үшін PBS ерітіндісінде қанды сұйылтыңыз.
5. Кейбір жіті бүйрек жеткілікіздігі немесе гемоглобинопатия сияқты аурулар жағдайында, эритроциттер лизисі баяу, толық емес немесе тіпті мүмкін емес болуы мүмкін. Бұл жағдайда бояудан бұрын тығыздық градиентін (мысалы, Ficoll) пайдаланып мононуклеарлы жасушаларды оқшаулап алу ұсынылады (14).
6. Адамға қарсы моноклоналды антиденелер терапиясымен емделген пациенттерде арнайы мақсатты антигендерді анықтау емдік антидененің ішінәра немесе толық бұғатталуына байланысты тәмендеуі немесе болмауы мүмкін.

7. Нәтижелер CD79a-APC пациенттің жалпы клиникалық деректері түрғысынан түсіндірілуге тиіс, соның ішінде: симптомдар, клиникалық анамнез, қосымша сынақтардың деректері және басқа тиісті ақпарат.

Мысалдар мен анықтамалар алу үшін қосымшаны қараңыз.

САУДА БЕЛГІЛЕРІ

Beckman Coulter, стильтенген логотип, сонымен қатар Beckman Coulter өнім мен қызмет көрсету белгілері — бұл АҚШ және басқа елдердегі Beckman Coulter, Inc. сауда белгілері немесе тіркелген сауда белгілері.

ҚОСЫМША АҚПАРАТ

Еуропалық Одақтағы және бірдей реттеу режимі (зертханалық жағдайдағы медициналық диагностикалық құрылғылар туралы 2017/746/ЕО қауылсы) бар елдердегі пациент/пайдаланушы/үшінші тарап үшін; егер осы құрылғыны пайдалану кезінде немесе оны пайдалану нәтижесінде елеулі оқиға орын алса, өндірушіге және/немесе оның уәкілетті өкіліне және үлттық органынызға хабарлаңыз.

Қауіпсіздік пен өнімділік бойынша қорытынды мәліметтер EUDAMED дерекқорында қолжетімді: ec.europa.eu/tools/eudamed.

Әзгерту тарихы

Белсенді құрамдас (АС) ҚАЙТА ҚАРАУ:	Шығарылған күні: Қазан 2019
РЕДАКЦИЯ	Шығарылған күні
AW	Ақпан 2022 ж.
Beckman Coulter ғаламдық таңбалашу саясатына және IVD-R (ЕО) 2017/746 талаптарына сәйкес жасалған жаңартулар:	
Қосылған бөлімдер	«BSI 2797 нөмірі», «Мақсатты пайдаланушы», «Клиникалық маңызы», «Концентрациясы», «Анықтық», «Дұрыстық», «Бос сынама шегі және анықтау шегі», «Қосымша ақпарат», «Әзгерту тарихы».
Қосылған ақпарат	«Шектеулер» бөлімінен қараңыз
Фразалар және типографиялық жаңартулар	«Процедура», «Өнімділік», «Шектеулер», «Ескерту және сақтық шаралары», «Сақтау және тұрақтылық» бөлімдерін қараңыз.
Жойылған бөлімдер	«Клиникалық қолдану мысалы», «Реагенттер», «Зертханаішлік жаңғыртылу», «Сызықтық»
Жаңартылған бөлімдер	«Пайдалану мақсаты», «GHS қауіптер классификациясы», «Закындалу белгілері», «Процедура», «Қосымша».
РЕДАКЦИЯ	Шығарылған күні
AX	
Жаңартылған бөлімдер	Қазақ тілін қосу
Жаңартылған бөлімдер	Сақтау және тұрақтылық

Таңбалар пернесі

Таңбалар глоссарийі beckman.com/techdocs сайтында (құжат нөмірі: В60062) қолжетімді

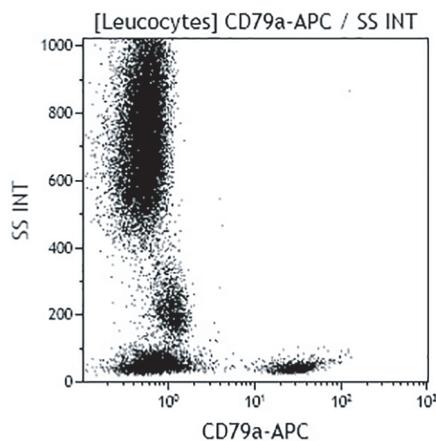
APPENDIX

- EXAMPLES

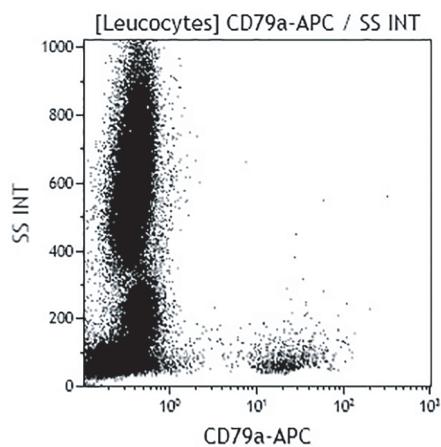
The graph below is a biparametric representation (Side Scatter versus Fluorescence Intensity) of a permeabilized / lysed normal whole blood sample. Whole blood samples stained with IOTest CD79a-APC Conjugated Antibody.

Acquisition is performed with a Beckman Coulter Navios flow cytometer equipped with the Navios analysis software.

PerFix-nc Lysing System



IntraPrep Lysing System



REFERENCES

1. N. Singh, H. P. P. Pati, S. Tyagi, R. Deka, "Proposed minimal panel of antibodies for cost-effectiveness and accuracy in acute leukemias immunophenotyping: Prospective study at a tertiary care center.", *Hematology*. 21, 338–342 (2016).
2. R. Paredes-Aguilera, L. Romero-Guzman, N. Lopez-Santiago, L. Burbano-Ceron, O. Camacho-Del Monte, S. Nieto-Martinez, "Flow cytometric analysis of cell-surface and intracellular antigens in the diagnosis of acute leukemia.", *Am J Hematol.* 68, 69–74 (2001).
3. G. Vasconcelos de Andrade Alves, A. L. Araújo da Cunha Fernandes, J. M. Freire, A. de Souza Paiva, R. C. de Vasconcelos, V. Soraya de Farias Sales, T. Maria de Araújo Moura Lemos, E. A. Gil, F. H. Miranda de Araújo Freire, D. G. K. C. e Silva, J. F. R. Maciel, I. G. Farkatt, G. B. C. Júnior, "Flow Cytometry Immunophenotyping Evaluation in Acute Lymphoblastic Leukemia: Correlation to Factors Affecting Clinic Outcome." *J Clin Lab Anal.* 26, 431–440 (2012).
4. S. Naeem, M. H. Bukhari, "Antigen Expression on Blast Cells and Hematological Parameters at Presentation in Acute Lymphoblastic Leukemia Patients." *J Coll Physicians Surg Pak.* 25, 407–411 (2015).
5. H.-F. Li, W.-T. Meng, Y.-Q. Jia, N.-G. Jiang, T.-T. Zeng, Y.-M. Jin, Q.-R. Huang, X. Li, H. Xu, X.-M. Mo, "Development-associated immunophenotypes reveal the heterogeneous and individualized early responses of adult B-acute lymphoblastic leukemia.", *Medicine (Baltimore)*. 2016 Aug; 95(34): e4128.
6. J.-H. Yu, J.-T. Dong, Y.-Q. Jia, N.-G. Jiang, "Individualized leukemia cell-population profiles in common B-cell acute lymphoblastic leukemia patients.", *Ai zheng.* 32, 213–223 (2013).
7. E. S. Blix, J. M. Irish, A. Husebekk, J. Delabie, L. Forfang, A. M. Tierens, J. H. Myklebust, A. Kolstad, "Phospho-specific flow cytometry identifies aberrant signaling in indolent B-cell lymphoma.", *BMC Cancer.* 12, 478 (2012).
8. N. Jiang, C. Chen, Q. Gong, K. Shields, Y. Li, Y. Chen, J. Song, T. W. McKeithan, W. C. Chan, "Flow cytometric sorting coupled with exon capture sequencing identifies somatic mutations in archival lymphoma tissues.", *Lab Invest.* 97, 1364–1374 (2017).
9. V. Deneys, A. M. Mazzon, J. L. Marques, H. Benoit, M. De Bruyère, "Reference values for peripheral blood B-lymphocyte subpopulations: a basis for multiparametric immunophenotyping of abnormal lymphocytes.", *Journal of Immunological Methods.* 253, 23–36 (2001).
10. T. M. Owaidah, A. A. Beihany, M. A. Iqbal, N. Elkum, G. T. Roberts, Cytogenetics, "Molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system.", *Leukemia.* 20, 620–626 (2006).
11. H42-A2 Vol.27 No. 16. P30. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline - Second Edition.
12. Reth, M., Hombach, J., Wienands, J., Campbell, K.S., Chien, N., Justement, L.B., Cambier, J.C., "The B-cell antigen receptor complex", 1991, *Immunol. Today*, 6, 12, 196-200.
13. Engel, P., Wagner, N., Tedder, T.F., "CD79 workshop report", 1995, *Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens*. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 667-670.
14. Ibrahim FF, Ghannam MM, Ali FM., "Effect of dialysis on erythrocyte membrane of chronically hemodialyzed patients"., 2002. Ren Fail., Nov;24(6):779-90.

IMMUNOTECH SAS 是贝克曼库尔特公司的旗下公司, 地址: 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, 电话: +(33) 4 91 17 27 27
www.beckman.com

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda
Alameda Rio Negro, 500, 15º andar, Torre B Alphaville Industrial
CEP 06.454-00 Barueri, São Paulo, Brasil
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

製造販売業者: ベックマン・コールター株式会社
〒135-0063
東京都江東区有明三丁目5番7号
TOC有明ウエストタワー

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH SAS A Beckman Coulter Company, 130, Avenue de Lattre de Tassigny,

BP 177, 13276 Marseille Cedex 9, France, +(33) 4 91 17 27 27
www.beckman.com