



Instrukcja użycia

Identyfikacja odczynnika IVD

CyFlow™ CD16 FITC

REF

BF752783

IVD

CE

Karta charakterystyki tego produktu jest dostępna pod adresem www.sysmex-partec.com/services.

Spis treści

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

1 Specyfikacja

Swoistość	ludzki CD16
Fluorochrom	FITC
Klon	3G8
Gospodarz / Izotyp	Mysz / IgG1
Zawartość	100 testów, 1 mL
Stosowanie	10 µL na test

2 Przeznaczenie

IVD

Do stosowania w diagnostyce in vitro.

Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD16 FITC jest przeznaczone do jakościowej diagnostyki in vitro w celu identyfikacji komórek przedstawiających ludzki antygen CD16 w antykoagulowanej krwi za pomocą przepływowej analizy cytometrycznej. Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD16 FITC jest przeznaczone do stosowania przez przeszkolonych pracowników laboratoriów i służby zdrowia w szpitalach i laboratoriach klinicznych, zarówno do ręcznego, jak i automatycznego przygotowywania próbek. Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD16 FITC może być stosowane do wspomagania diagnozy i klasyfikacji chorób u pacjentów przez laboratoria kliniczne.

3 Zasada metody testowej

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

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

4 Przechowywanie i okres ważności po pierwszym otwarciu

1. Przechowywanie:

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

2. Okres ważności po pierwszym otwarciu:

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

Przeciwciało monoklonalne CyFlow™ CD16 FITC zachowuje właściwości użytkowe po wprowadzeniu do użytku przez co najmniej 545 dni.

5 Komponenty

Mysie przeciwciała monoklonalne (klon 3G8, izotyp IgG1) skierowane przeciwko ludzkiemu antygenowi CD16, znakowane fluorochromem FITC.

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

6 Oznaki pogorszenia jakości

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

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

7 Środki ostrożności i ostrzeżenia

Odczynnik zawiera azcydek sodu (NaN_3), który jest bardzo toksyczny w czystej postaci. Stężenie w odczynniku nie jest jednak niebezpieczne. Podczas utylizacji odczynnika należy przestrzegać obowiązujących lokalnych przepisów.

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

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

8 Dodatkowe wymagane wyposażenie

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

Wytrząsarka typu Vortex

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

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

Potrzebne materiały: Materiały potrzebne do pobrania krwi pełnej

Jednorazowe probówki do barwienia próbek krwi

Pipety z jednorazowymi końcówkami na 10, 100 i 1000 μl

Odpowiednie środki ochrony indywidualnej

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

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

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

9 Przygotowanie odczynników

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

10 Utylizacja

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

11 Pobieranie, obróbka i przechowywanie próbek pierwotnych

Ostrzeżenie

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

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

12 Procedura testowa

12.1 Barwienie

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

12.2 Analiza próbki

12.2.1 Wewnętrzna kontrola jakości

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

12.2.2 Cytometria przepływowa

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

12.3 Gromadzenie i analiza danych

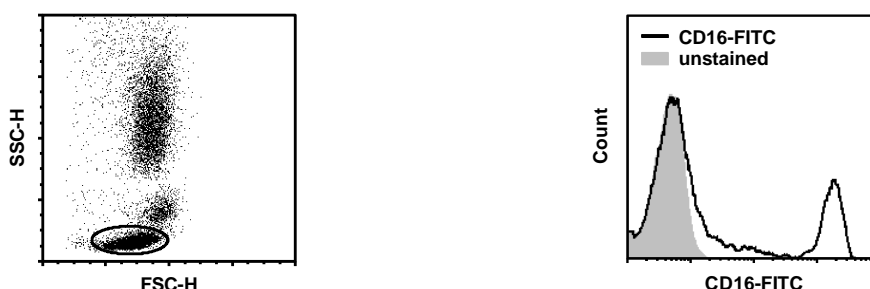
Dane należy zgromadzić i przeanalizować przy użyciu cytometru przepływowego o odpowiedniej konfiguracji.

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

Należy zapoznać się z podaną przez producenta specyfikacją cytometru dotyczącą detektorów fluorescencyjnych, w których gromadzone są zdarzenia emisji fluorescencji przeciwciał barwionych CD16+ zgodnie z charakterystyką emisji fluorochromu.

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

Dane reprezentatywne CyFlow™ CD16 FITC wykonane dla krwi pełnej i bramkowane na limfocyty są przedstawione na ryc. 1.



Ryc. 1: Dane reprezentatywne CyFlow™ CD16 FITC, przeanalizowane cytometrem przepływowym wyposażonym w laser niebieski (wzbudzenie laserowe 488 nm).

13 Interpretacja wyników

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

14 Procedura kontrolna

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

15 Charakterystyka wydajności testu

15.1 Swoistość analityczna

Przeciwciało monoklonalne 3G8 zostało przypisane podczas International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens do ludzkiego antygenu CD16.

HLDA V—WS Code NK80

15.2 Czułość analityczna

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

Stężenie CyFlow™ CD16 FITC w butelce (100 µg/ml) jest wystarczające, aby umożliwić oddzielenie komórek dodatnich od tła w próbce z prawidłową lub nieprawidłową ekspresją antygenu oczekiwaną w pewnych stanach patologicznych.

15.3 Dane reprezentatywne

Aby określić wydajność barwienia odczynnikiem CyFlow™ CD16 FITC, procent komórek dodatnich CD16, bramkowanych na limfocytach, został oznaczony przy użyciu pięciu próbek krwi, od zdrowych dawców, barwionych dwoma seriami odczynników w pięciu powtórzeniach na serię i próbkę.

CD16+ komórki (bramkowanych na limfocytach)					
	próbka #1	próbka #2	próbka #3	próbka #4	próbka #5
średnia (%)	19.53	10.33	10.91	7.62	5.73
SD	0.81	0.27	0.47	0.41	0.29
CV (%)	4.12	2.65	4.34	5.43	5.12

Tabela 1: Podsumowanie uzyskanych wyników

16 Ograniczenia

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

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

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

Hemoliza może wskazywać na niewłaściwe warunki przechowywania, które mogą mieć wpływ na działanie produktu pod względem zdolności do lizy. Dlatego należy wykluczyć próbki hemolizowane.

W przypadku hiperleukocytozy zaleca się rozcieńczyć próbki krwi przy użyciu PBS do stężenia 5 x 10⁶ leukocytów/ml.

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

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

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

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

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

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

17 Piśmiennictwo

- Knapp W, Dorken B, Gilks W, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, von dem Borne AEGK (Eds): Leucocyte Typing IV. Oxford University Press, Oxford. 1989; 1-1820. < NLM ID: 8914679 >
- Doussis IA, Gatter KC, Mason DY: CD68 reactivity of non-macrophage derived tumours in cytological specimens. J Clin Pathol. 1993 Apr; 46(4):334-6. < PMID: 7684403 >
- Metes D, Ernst LK, Chambers WH, Sulica A, Herberman RB, Morel PA: Expression of functional CD32 molecules on human NK cells is determined by an allelic polymorphism of the FcγRIIc gene. Blood. 1998 Apr 1; 91(7):2369-80. < PMID: 9516136 >
- Zhu X, Hamann KJ, Muñoz NM, Rubio N, Mayer D, Herrnreiter A, Leff AR: Intracellular expression of FcγRIII (CD16) and its mobilization by chemoattractants in human eosinophils. J Immunol. 1998 Sep 1; 161(5):2574-9. < PMID: 9725258 >
- Wijngaarden S, van Roon JA, van de Winkel JG, Bijlsma JW, Lafeber FP: Down-regulation of activating Fcγ receptors on monocytes of patients with rheumatoid arthritis upon methotrexate treatment. Rheumatology (Oxford). 2005 Jun; 44(6):729-34. < PMID: 15757966 >
- Komano Y, Nanki T, Hayashida K, Taniguchi K, Miyasaka N: Identification of a human peripheral blood monocyte subset that differentiates into osteoclasts. Arthritis Res Ther. 2006; 8(5):R152. < PMID: 16987426 >
- Congy-Jolivet N, Bolzec A, Ternant D, Ohresser M, Watier H, Thibault G: FcγRIIIa expression is not increased on natural killer cells expressing the FcγRIIIa-158V allotype. Cancer Res. 2008 Feb 15; 68(4):976-80. < PMID: 18281470 >
- Choi EI, Wang R, Peterson L, Letvin NL, Reimann KA: Use of an anti-CD16 antibody for in vivo depletion of natural killer cells in rhesus macaques. Immunology. 2008 Jun; 124(2):215-22. < PMID: 18201184 >
- Burt BM, Plitas G, Zhao Z, Bamboat ZM, Nguyen HM, Dupont B, DeMatteo RP: The lytic potential of human liver NK cells is restricted by their limited expression of inhibitory killer Ig-like receptors. J Immunol. 2009 Aug 1; 183(3):1789-96. < PMID: 19587011 >
- Jeraiby M, Yahya KS, Depince - Berger AE, Lambert C: Microbicidal activity measured by flow cytometry: Optimization and standardization for detection of primary and functional deficiencies. J Immunol Methods. 2017 Feb 28; 441:8 - 14. < PMID: 27693641 >

18 Kontakt

Producent

















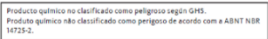
Sysmex Partec GmbH
Arndtstraße 11 a-b
02826 Görlitz, Niemcy
www.sysmex-partec.com

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

19 Numer wersji IFU i data wydania

Rewizja : Rew.4_2022-12-2
Wydane przez : Sysmex Partec GmbH

20 Symbolika

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